

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y
SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA
URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.**

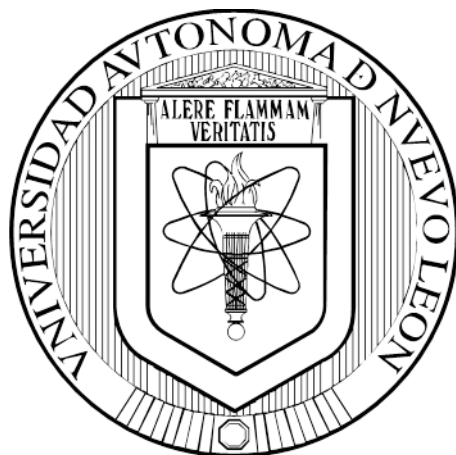
POR

M.C. MYRIAM TATIANA MONTAÑO SOTO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN FARMACOLOGÍA Y
TOXICOLOGÍA**

SEPTIEMBRE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



**DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y
SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA
URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.**

POR

M.C. MYRIAM TATIANA MONTAÑO SOTO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN FARMACOLOGÍA Y
TOXICOLOGÍA**

SEPTIEMBRE 2016

**DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y SU
RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA
URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.**

Aprobación de la Tesis:



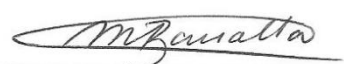
Dr. med. LOURDES GARZA OCAÑAS

Director de Tesis



Dr. C. CHRISTIAN BADILLO CASTAÑEDA

Codirector de Tesis



Dr.C. MARÍA TERESA ZANATTA CALDERÓN

Comisión de Tesis



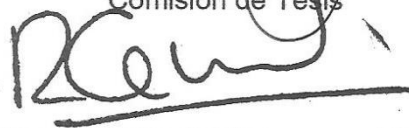
Dr. med. JUAN ANTONIO CUÉLLAR LÓPEZ

Comisión de Tesis



Dr. BENJAMÍN LIMÓN RODRÍGUEZ

Comisión de Tesis



Dr. med. RAQUEL GUAJARDO GARZA

Subdirector de Estudios de Posgrado

Agradecimientos

Agradezco a mi familia y mi esposo Edgar, por su apoyo incondicional.

A mi directora Dra. Lourdes Garza Ocañas y codirector Dr. Christian Badillo por todo su apoyo durante el desarrollo del proyecto, por los conocimientos y experiencia compartida.

A los miembros de mi comisión,

Dra. María Teresa Zanatta Calderón, Dr. Juan Antonio Cuellar y Dr. Benjamín Limón, por su tiempo y sus valiosas recomendaciones al desarrollo del proyecto.

M.C. Humberto Garza Ulloa, por su experiencia, sus consejos, y el tiempo dedicado al proyecto.

Al Sistema Integral de Monitoreo Ambiental N.L. (SIMA) y la Comisión Nacional del Agua (CNA), por proporcionar la información solicitada.

A los responsables de la Clínica Municipal y Servicios de Emergencia del municipio de Cadereyta, por las facilidades otorgadas para la instalación del equipo.

A mis compañeros y maestros.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico para la realización de mis estudios de doctorado.

**DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y SU
RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA
URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.**

Presentado por

M.C. Myriam Tatiana Montaña Soto

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Farmacología y Toxicología
de la Facultad de Medicina de la UANL bajo la dirección de la Dr. *med.* Lourdes
Garza Ocañas.



Dr. *med.* LOURDES GARZA OCAÑAS

Director de Tesis

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del Estudio: **DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.**

Número de páginas: 128

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) son un grupo de compuestos orgánicos semivolátiles, generados durante la combustión incompleta de materia orgánica. Durante los últimos años, diversos estudios epidemiológicos han relacionado la exposición a PAHs con el desarrollo de cáncer y el aumento de enfermedades respiratorias. La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) considera a 16 PAHs como contaminantes prioritarios.

Entre las fuentes más importantes de PAHs, se encuentran las emisiones vehiculares y la industria, entre las que destaca la refinación de petróleo. Actividad que durante los últimos 30 años se ha desarrollado en el Área Metropolitana de Monterrey (AMM).

Objetivo. Determinar la concentración de 1-hidroxipireno urinario (1-OHP), como marcador biológico de la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), en población infantil residente de un área cercana a una refinería de petróleo, ubicada en el noreste de México, determinar el contenido de PAHs en partículas ambientales con un diámetro inferior a 2.5 micras (PM_{2.5}), y evaluar el riesgo asociado por exposición a PAHs.

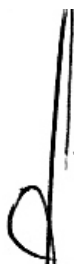
Material y Métodos. El estudio se llevó a cabo en al área urbana del municipio de Cadereyta Jiménez, Nuevo León; el muestreo ambiental se realizó cada seis días, de los meses de julio de 2014 a junio de 2015. Se colectaron dos muestras de orina, una en agosto de 2014 y una en enero de 2015, de 90 niños residentes del área de estudio, previa firma de consentimiento informado, por parte de los padres. La cuantificación de 1-OHP y de PAHs asociados a PM_{2.5} se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El análisis estadístico incluyó estadística descriptiva de todas las variables consideradas, pruebas no paramétricas para identificar diferencias significativas y análisis de correlación de Spearman.

Resultados. Se obtuvieron un total de 48 muestras ambientales. La concentración promedio de $PM_{2.5}$ fue de $16.4 \pm 7.1 \mu g/m^3$. Se cuantificaron doce de los 16 PAHs validados. La concentración promedio anual de PAHs fue de $1.08 ng/m^3$. La concentración promedio de 1-OHP en orina fue de $0.14 \mu mol/mol$ de creatinina. El 13% de la población estudiada presentó niveles superiores al valor de referencia para personas no ocupacionalmente expuestas y no fumadoras

Conclusiones. Este trabajo representa el primer estudio en el norte de México en el que se evalúan los niveles de 1-OHP en población infantil, de manera conjunta con los niveles de PAHs asociados a $PM_{2.5}$.

La concentración media anual de $PM_{2.5}$ para el área de estudio fue superior a los valores establecidos en la normatividad nacional e internacional. De los PAHs asociados, el benzo (ghi) perileno, indeno (123 cd) pireno, y benzo (b) fluoranteno, presentaron la mayor contribución durante el periodo de muestreo. La combustión de la gasolina y diésel, y las emisiones asociadas con la industria fueron las fuentes más importantes.

De los 12 HAP cuantificados, siete son potencialmente cancerígenos, y uno el benzo [a] pireno, es carcinógeno para el humano, y se utiliza como un indicador del riesgo relativo de cáncer por exposición a los PAHs. En este estudio, la concentración media anual de benzo (a) pireno, sugirió un riesgo excesivo de cáncer de por vida de 1/100,000 habitantes.



Dr. med. LOURDES GARZA OCAÑAS
Director de Tesis

TABLA DE CONTENIDOS

Capítulo	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Partículas ambientales	2
1.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos	5
1.3 Biomarcadores de exposición a PAHs	10
1.4 Área Metropolitana de Monterrey	13
1.5 Refinación de petróleo como fuente de PAHs a la atmósfera	16
Justificación	20
Objetivos	21
Objetivo general	21
Objetivos específicos	21
II. MATERIAL Y MÉTODOS	22
2.1 Área de estudio	22
2.2 Metodología de muestreo	23
2.2.1 Muestreo ambiental	23
2.2.2 Muestreo biológico	26
2.3 Métodos analíticos.	28
2.3.1 Determinación de PM _{2.5}	28
2.3.2 Determinación del contenido de PAHs en las PM _{2.5}	29
2.3.3 Determinación de 1-hidroxipireno urinario	32
2.4. Análisis de datos	35
2.4.1 Análisis estadístico de la concentración de PM _{2.5} y PAHs	35
2.4.2 Identificación de las fuentes de emisión de PAHs	36

2.4.3 Estimación del riesgo carcinogénico por exposición a PAHs	37
2.4.4 Análisis estadístico de la concentración de 1-OHP	38
III. RESULTADOS.....	39
3.1 Determinación de partículas PM _{2.5} en muestras ambientales	39
3.2 Validación del método analítico para cuantificación de PAHs	40
3.3. Determinación de PAHs asociados a PM _{2.5}	41
3.4 Correlación con parámetros meteorológicos	45
3.5 Identificación de las fuentes de emisión de PAHs.....	48
3.6 Riesgo relativo por exposición a PAHs.....	49
3.7 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP ...	52
3.8 Características sociodemográficas de la población estudio	53
3.9 Cuantificación de 1-OHP urinario en población infantil.....	56
3.10 Concentración de 1-OHP, en función de la exposición	57
IV. DISCUSIÓN	61
V. CONCLUSIONES.....	75
Perspectivas.....	77
APÉNDICES.....	90
Apéndice 1 Material, equipos y reactivos	91
Apéndice 2 Calibración del equipo muestreador de PM _{2.5}	93
Apéndice 3 Muestreo de partículas PM _{2.5}	97
Apéndice 4 Cálculo de concentración de partículas PM _{2.5}	98
Apéndice 5 Cálculo de la concentración de PAHs en ng/m ³	99
Apéndice 6 Cuestionario	100
Apéndice 7 Consentimiento informado.....	103
Apéndice 8 Validación de métodos analítico	108

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1. Listado de PAHs clasificados contaminantes prioritarios.	6
Tabla 2. Valores de referencia para la concentración atmosférica de BaP.	8
Tabla 3. Valor de referencia para 1-hidroxipireno en población infantil.	12
Tabla 4. Condiciones de operación del HPLC para la determinación de PAHs.	31
Tabla 5. Condiciones de operación final del HPLC para la determinación de 1-OHP.	34
Tabla 6. Radios diagnósticos utilizados para identificar fuentes de PAHs.	36
Tabla 7. Factores de equivalencia toxica.	37
Tabla 8. Variación estacional en la concentración de PM _{2.5}	40
Tabla 9. Resultados de la validación del método para la determinación de PAHs.	41
Tabla 10. Concentración mensual de PAHs.	43
Tabla 11. Variación estacional en la concentración de PAHs.	45
Tabla 12. Valores promedio de los parámetros meteorológicas.	46
Tabla 13. Análisis de correlación entre parámetros meteorológicos y la concentración de PAHs y PM _{2.5}	47
Tabla 14. Resultado de los radios diagnósticos y las fuentes de PAHs.	49
Tabla 15. Concentración de equivalente de BaP (BaP _{eq}), por temporada.	51
Tabla 16. Resultados de la validación del método para la determinación de 1-OHP urinario.	53
Tabla 17. Concentración de 1-OHP, en función de variables sociodemográficas y de exposición.	57
Tabla 18. Porcentaje de participantes en cada nivel de la guía de referencia ..	59
Tabla 19. Comparación de resultados de excreción de 1-OHP urinario con lo reportado en otros estudios.	60

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Distribución de las partículas en el árbol bronquial.....	3
Figura 2. Estaciones de monitoreo que conforman el SIMA del AMM.	14
Figura 3. Concentración anual promedio de $PM_{2.5}$ en el AMM, correspondientes al periodo de 2003 - 2015.	15
Figura 4. Refinerías de la República Mexicana.....	19
Figura 5. Mapa de localización de los sitios de muestreo	23
Figura 6. Equipo de muestreo instalado.	24
Figura 7. Concentración promedio diaria de $PM_{2.5}$	39
Figura 8. Concentración diaria de PAHs totales	42
Figura 9. Concentración individual de PAHs (a) y contribución relativa de PAHs individuales (b) durante las temporadas de muestreo.	44
Figura 10. Concentración diaria de BaP durante el periodo de muestreo.....	50
Figura 11. Concentración temporal de BaP y BaP_{eq}	52
Figura 12. Distribución de los participantes por edad.....	54
Figura 13. Porcentaje de participación por escuela (a) y grado escolar (b).	54
Figura 14. Niveles de concentración de 1-OHP urinario por participante	56

CAPITULO I

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental sin duda es uno de los problemas más importante que enfrente la sociedad actual, la generación y liberación de contaminantes al ambiente, altera drásticamente el equilibrio ecológico, lo que afecta no sólo la calidad de los recursos naturales, sino que representa una importante amenaza para la salud de las personas.

La asociación entre la contaminación ambiental y sus efectos sobre la salud humana ha sido ampliamente documentada. Para el año 2006 se estimó que en países en vías de desarrollo, entre el 23 y 36% de la mortalidad en adultos y niños, respectivamente, era atribuible a factores ambientales, donde las infecciones en vías respiratorias asociadas la contaminación del aire, se ubicaban en segundo lugar.¹

Para el año 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS), estimó que 7 millones de muertes en el mundo, es decir, una de cada ocho muertes al año, se relacionaban con la exposición a contaminantes del aire. De estas cifras, 3,7 millones eran atribuibles a la contaminación del aire ambiente, y el resto a la contaminación del aire en el hogar.²

Entre los agentes contaminantes del aire, de mayor interés en la salud pública, destacan el bióxido de azufre (SO₂), bióxido de nitrógeno (NO₂), material

particulado ($PM_{2.5}$ y PM_{10}), plomo (Pb), monóxido de carbono (CO) y ozono (O_3).³ Por sus efectos perjudiciales a la salud humana y el medioambiente, actualmente estos seis contaminantes son clasificados bajo el calificativo de “contaminantes criterio”, los cuales son regulados mediante guías y normas, que establecen las concentraciones ambientales máximas permisibles, así como los niveles de exposición, que garanticen la protección a la salud humana y el bienestar de la población en general.^{4,5}

De los contaminantes criterio, el material particulado es considerado uno de los contaminantes con mayor impacto a la salud, ya que se encuentra ampliamente distribuido, en altas concentraciones en zonas urbanas y asociado a diversas sustancias químicas.

1.1 Partículas ambientales

Las partículas ambientales o material particulado (PM, por sus siglas en inglés) es una mezcla compleja de sustancias sólidas y líquidas que se encuentran suspendidas en la atmósfera, cuyo diámetro aerodinámico es de los 0.005 a 100 micras.⁶ En función de su diámetro aerodinámico, las PM se clasifican en: partículas suspendidas totales ($PST < 100 \mu m$), partículas fracción gruesa o inhalable ($PM_{10} < 10 \mu m$), finas ($PM_{2.5} < 2.5 \mu m$) y ultrafinas ($PM \leq 0.1 \mu m$).⁷

Su diámetro aerodinámico es una de las características más utilizadas para describir su capacidad de transporte y distribución en el ambiente, así como su impacto en la salud.⁸ Se ha descrito que las partículas de menor tamaño

presentan una distribución más amplia, permanecen más tiempo en el aire y se depositan más lentamente que las de mayor tamaño.

Respecto a su impacto en la salud, actualmente se reconoce que las partículas con diámetro aerodinámico menor $2.5\ \mu\text{m}$, es decir, las fracciones fina y ultrafina, son las que mayor riesgo representan para la salud de las personas, ya que tienen la capacidad de llegar hasta la región alveolar de los pulmones y servir de vehículo a diversas sustancias, para su ingreso al torrente sanguíneo (Figura 1).^{9,10}

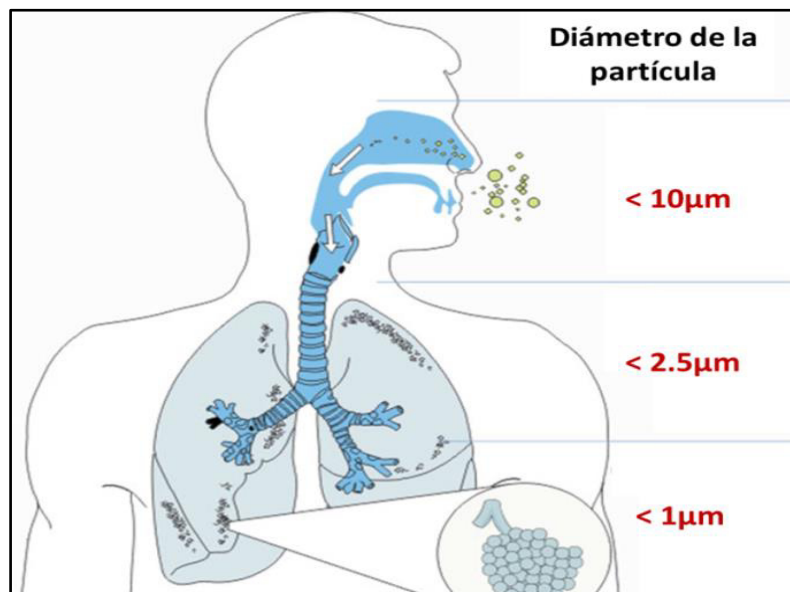


Figura 1. Distribución de las partículas en el árbol bronquial

Las partículas ambientales pueden ser de origen natural o antropogénico; generadas durante erupciones volcánicas, incendios forestales y tolvaneras o liberadas por actividades industriales, como fábricas de acero, plantas generadoras de energía, cementeras, fundidoras, o por fuentes móviles, principalmente vehículos automotor.¹¹ De acuerdo a su proceso de formación

las partículas también se clasifican como primarias, cuando son emitidas directamente por la fuente, o secundarias, cuando son producto de reacciones químicas de sustancias, como óxidos de azufre (SO_x), nitrógeno (NO_x) y compuestos orgánicos.⁶

La OMS no ha podido establecer un nivel umbral para el material particulado, sin embargo diversos estudios epidemiológicos y toxicológicos muestran fuerte evidencia de los efectos adversos en la salud, por la exposición a las partículas.⁸ Por lo que la evaluación de la concentración de PM en el aire ambiente se ha convertido en un tema de considerable importancia en los últimos años, en relación con la salud pública.¹²

Aunque todavía hay una falta fundamental en la comprensión de los mecanismos subyacentes de su toxicidad, una hipótesis ampliamente aceptada es que la toxicidad de las partículas no sólo depende de su tamaño, sino también de su composición. De las sustancias asociadas, la fracción orgánica puede representar hasta el 50% de la masa total de las partículas.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) constituyen una de las familias más importantes y mejor conocidas, que se asocian a las PM. Estudios realizados en partículas ambientales revelaron que compuestos orgánicos como los PAHs, juegan un papel importante en la generación de efectos adversos para la salud, incluso actualmente son considerados los principales responsables del potencial carcinógeno y mutágeno de las partículas.^{13–16}

1.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) son un grupo de compuesto orgánicos semivolátiles, escasamente solubles en agua y altamente lipofílicos, formados por dos o más anillos aromáticos condensados.^{15,17} Los PAHs son generados durante la combustión incompleta de materia orgánica como carbón, derivados del petróleo, basura y alimentos. A elevadas temperaturas, la pirolisis de la materia orgánica, produce fragmentos de moléculas y radicales que se combinan para dar lugar a los PAHs.^{15,18}

Inicialmente, los PAHs son liberados en forma de vapor y debido a su baja presión de vapor, la mayoría se condensan inmediatamente sobre partículas.¹⁹ Se considera que los PAHs de dos o tres anillos de benceno son más abundantes en la fase gaseosa, por lo que pueden dispersarse más fácilmente, en comparación con los que presentan cuatro o cinco anillos, que se caracterizan por presentar una temperatura relativamente alta de condensación, una fácil adherencia a partículas y por tanto una movilidad relativamente más baja, lo que provoca que se depositen rápidamente, en otras matrices ambientales, como el suelo y aguas superficiales, de áreas cercanas a la fuente de emisión.²⁰

Toxicidad de los PAHs

De las más de 100 sustancias que conforman el grupo de los PAHs, 16 están incluidas entre los 129 contaminantes prioritarios, considerados así por su toxicidad, potencial de exposición humana, y frecuencia de aparición en sitios de residuos peligrosos.²¹ De estos 16 PAHs, siete se encuentran bajo la

categoría de posibles o probables carcinógenos, mientras que sólo el benzo [a] pireno ha sido clasificado como carcinógeno para el humano, por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (Tabla 1).^{18,22}

Tabla 1. Listado de PAHs clasificados contaminantes prioritarios.

Naftaleno ^[*]	Fluoranteno	Benzo (a) pireno ^[***]
Acenafteno	Pireno	Dibenzo (ah) antraceno ^[**]
Acenaftileno	Benzo (a) antraceno ^[*]	Benzo (ghi) perileno
Fluoreno	Criseno ^[*]	Indeno (123-cd) pireno ^[*]
Fenantreno	Benzo (b) fluoranteno ^[*]	
Antraceno	Benzo (k) fluoranteno ^[*]	
[*]Grupo 2B: Posible carcinógeno para el humano		
[**]Grupo 2A: Probable carcinógeno para el humano		
[***]Grupo 1: Carcinógeno para el humano		

Efectos en salud por exposición a PAHs

Entre los efectos más importantes asociados a la exposición crónica a PAHs, está el aumento en el desarrollo de cáncer de pulmón, piel y vejiga.²³ También han sido identificados como agentes causantes de enfermedades cardiopulmonares, cardiorrespiratorias, irritación de la piel y ojos, exacerbación de asma y reacciones alérgicas, asociadas al aumento en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS).^{8,16,23} Además, la exposición materna se ha relacionado con abortos espontáneos y efectos en el desarrollo del feto.²⁴

La carcinogenicidad de los PAHs se asocia con su potencial para formar aductos de ADN. El aumento de los niveles de aductos de ADN se considera un predictor de enfermedades como el cáncer.²⁵ La formación de aductos implica

normalmente la unión covalente del carbono bencílico del epóxido dihidrodiol, formado durante la activación metabólica de los PAHs, con una de las bases del ADN, generalmente con la guanina, aunque también suele ocurrir con la adenina y citosina.²⁶

Otro mecanismo sugerido, está relacionado la capacidad que tienen los PAHs de activar el receptor de aril hidrocarburos (AHR). La activación del AHR conduce a la inducción de proto-oncogenes como c-Jun, el cual se ha observado con altos niveles de expresión en tumores de colon, células tumorales de pacientes con linfoma, tumores malignos de piel y de mama.²⁷ Si bien no todos los PAHs han mostrado poseer efectos carcinogénicos, en ocasiones el efecto se atribuye a la presencia conjunta de más de un compuesto de la familia.¹⁵

En relación al efecto de los PAHs como posibles disruptores endócrinos, el tema es aún controversial, debido a la importante presencia en el ambiente de otros compuestos químicos, con actividad estrogénica.¹⁵

Normas de calidad del aire para los PAHs

Muchos países han incluido a los PAHs en sus listados de contaminantes peligrosos del aire, y han establecido valores límites y objetivos, principalmente para PAHs como el benzo (a) pireno (BaP). Para los valores límite, existe suficiente evidencia científica que indica que la exposición a niveles superiores a los establecidos, representa un riesgo para la salud de las personas. Mientras que los valores objetivo, son niveles que deberán alcanzarse, en la medida de

lo posible, en un momento determinado, con el fin de evitar, prevenir o reducir los efectos nocivos sobre la salud humana, y el medio ambiente.²⁰

El BaP es el único de los PAHs clasificado como cancerígeno para el humano; actualmente su cuantificación en el aire ha sido propuesta como un indicador para evaluar el riesgo relativo de carcinogenicidad y riesgo a la salud asociado a la exposición a PAHs.²⁸⁻³⁰ En este sentido, países como Reino Unido han establecido como límite anual de BaP una concentración de 0.25 ng/m³.³¹ Por su parte la Unión Europea ha propuesto un valor objetivo de 1.0 ng/m³, como promedio anual para el contenido total en la fracción PM₁₀.³² Otros países han propuestos valores semejantes, sin embargo a la fecha ninguno de estos países cuenta con una normatividad estricta en referencia a los PAHs (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de referencia para la concentración atmosférica de BaP (ng/m³).

País	Valor límite	Valor de referencia (promedio anual)
Australia	-	1.0
Bélgica	1.0	0.5
Croacia	2.0	0.1
Alemania	-	10.0
India ^b	-	5.0
Países Bajos	1.0	0.5
Francia	0.7	0.1
Italia	1.0	-
Suecia	-	0.1
Reino Unido	-	0.25
OMS	-	1.0

UE ^c	6.0	-
UE	-	1.0 ^d

^a Valor límite que no se podrá superar y evitar superar el valor de referencia.

^b Reducir 1 ng/m³ cada año a partir de 2005 a 2010 hasta alcanzar 1 ng /m³ en 2010.

^c Para cumplir en 2010.

^d Valor objetivo para el contenido total en la fracción PM₁₀

Exposición a mezclas de PAHs

Además del benzo (a) pireno otros PAHs han sido clasificados como posibles o probables carcinógenos. En este sentido la Unión Europea, también sugiere evaluar la contribución de otros PAHs relevantes, como son el benzo (a) antraceno, benzo (b) fluoranteno, benzo (j) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, Indeno (1,2,3-cd) pireno y dibenzo (a,h)antraceno.²⁰

Para estimar el riesgo que representa la exposición a mezclas complejas de PAHs, considerando que el efecto tóxico de los PAHs es aditivo, se ha sugerido el uso de factores de equivalencia tóxica (FET).^{28,33} Los factores de equivalencia tóxica, son un parámetro que permite estimar la toxicidad de un compuesto con respecto a un compuesto de referencia, en el caso de PAHs, el compuesto de referencia es el BaP.³⁰

Para el cálculo de los equivalentes de benzo (a) pireno (BaP_{eq}) se utiliza la concentración individual de cada uno de los PAHs y su factor de equivalencia tóxica (TEF), que indica el potencial cancerígeno de cada PAHs, en relación al BaP.³⁴ Diversos autores han propuesto factores de equivalencia tóxica, sin

embargo, unas de las equivalencias más utilizadas son las propuestas en 1992 por Nisbet y LaGoy, que corresponden a una modificación de las equivalencias propuestas en la década de los 80.³³

1.3 Biomarcadores de exposición a PAHs

Una de las herramientas más utilizadas en toxicología humana y ambiental, para evaluar la relación entre la exposición a determinadas sustancias ambientales y sus efectos, es el uso de biomarcadores de exposición.³⁵

De manera general se considera que un biomarcador es un evento medible producido en un sistema biológico, y que si bien no representa una prueba diagnóstica, indica que se ha producido un cambio temprano, que puede desencadenar en una enfermedad clínica, es decir, un biomarcador de exposición tiene como objetivo medir la exposición a los agentes xenobióticos que producen enfermedades y predecir la respuesta tóxica que podría ocurrir. Los biomarcadores de exposición pueden ser un xenobióticos, metabolitos o componentes endógenos, que son evaluados mediante sus concentraciones en un fluido corporal, como sangre, orina o suero.³⁶

En el caso específico de los PAHs, se han utilizado diversos metabolitos hidroxilados, como el 1-hidroxipireno, 3-hidroxibenzo (a) pireno, 1-,2-,3-,4-,9-hidroxifenantreno, 1-,2-naftol. Sin embargo, en la actualidad el biomarcador más utilizado, es el 1-hidroxipireno.¹⁵

1-Hidroxipireno como biomarcador de la exposición a PAHs

El 1-hidroxipireno es un metabolito producto del metabolismo del pireno, el cual es eliminado en la orina. A pesar de que el pireno no se encuentra bajo la categoría de cancerígeno para el humano, se distingue por estar presente en la mayoría de los escenarios de emisiones de PAHs, por lo que actualmente el 1-hidroxipireno es considerado un indicador no sólo de la exposición a pireno, sino a todos los PAHs.^{37,38}

Entre las ventajas más importantes que presenta este biomarcador es una vida media corta de 18h (con un rango de 6 a 35 h), por lo que aporta información de la exposición reciente a PAHs, así como una excreción dependiente de la dosis de pireno absorbida. Actualmente es utilizado tanto en cohortes ocupacionales, como en población en general, ya que es el único para el que se han establecido valores de referencia.³⁹

En 2001 Jongeneelen, propone una guía de referencia para el 1-hidroxipireno urinario como biomarcador de exposición ocupacional a PAHs. La guía se basa en tres niveles, establecidos con base en los hallazgos de diversos estudios, en los que se evalúa la concentración de 1-OHP en población bajo diferentes escenarios de exposición: el primer nivel de la guía de referencia considera una excreción base de 1 – hidroxipireno urinario, debida principalmente a la ingesta dietética de PAHs y al tabaquismo, para controles que no están ocupacionalmente expuestos. Los valores para el percentil 95 son 0,24 creatinina mmol/mol creatinina y 0,76 mmol/mol para fumadores y no fumadores, respectivamente. En el segundo nivel, se toma en cuenta la

prevención de eventos genotóxicos como aductos de ADN y efectos cromosómicas en trabajadores expuestos; este nivel se considera una concentración 1,4 mol de creatinina/mol. El tercer nivel de la guía de referencia considera un nivel específico para dos tipos de exposición ocupacional, hornos de coque con un nivel de 2.3 mmol/mol creatinina, y la producción de aluminio primario con un nivel de 4,9 mmol/mol creatinina.³⁸

Más recientemente países como Alemania y Estados Unidos, han presentado algunos valores, para su población, incluyendo algunos niveles para la población infantil, reconocida como un grupo especialmente vulnerable a los efectos de contaminantes ambientales, como los PAHs (Tabla 3).^{37,40, 41,42}

Tabla 3. Valores de referencia para 1-hidroxipireno (μmol/mol de creatinina) en población infantil.

País	Edad	1-OHP	Referencia
Estados Unidos	6-11	0.06 (0.05-0.07)	CDC, 2009
	12-19	0.05 (0.04-0.05)	
Alemania	3-14	0.18-0.21	Wilhelm, 2008

Fuentes de emisión de PAHs a la atmósfera

En el medio ambiente los PAHs generalmente se encuentran como mezclas complejas y no como compuestos simples. De manera general se consideran cinco fuentes principales de emisión de PAHs a la atmósfera, que corresponden a emisiones naturales, domésticas, agrícolas, móviles e industriales.²⁰ Debido a la heterogeneidad de sus fuentes, se considera que la presencia de los PAHs

es ubicua; sin embargo son las áreas urbanas las que presentan mayor riesgo para la salud de sus pobladores, como consecuencia de una mayor densidad poblacional, mayor presencia de automóviles y de industria.¹⁷

Entre las principales actividades industriales que liberan PAHs a la atmósfera, se encuentran las relacionadas con la producción de aluminio primario, producción de coque, incineración de residuos, fabricación de cemento, y la industria del petróleo en general.^{9,17,20,43,44}

1.4 Área Metropolitana de Monterrey

El Área Metropolitana de Monterrey (AMM) es el núcleo urbano e industrial más importante del noreste del país.⁴⁵ Desde la década de 1970, el crecimiento en el sector industrial trajo consigo un intenso proceso de urbanización en la zona, que durante los últimos años se ha traducido en un deterioro gradual de la calidad del aire.⁴⁶

Desde el año de 1992 el AMM cuenta con un sistema integral de monitoreo ambiental (SIMA), que a la fecha comprende diez estaciones, en las que se evalúa de manera continua, la concentración de los 6 contaminantes criterios: bióxido de azufre (SO₂), bióxido de nitrógeno (NO₂), partículas ambientales PM_{2.5} y PM₁₀, plomo (Pb), monóxido de carbono (CO) y ozono (O₃); así como los parámetros meteorológicos de temperatura, precipitación, humedad relativa, radiación solar, presión atmosférica, dirección y velocidad del viento (Figura 2).

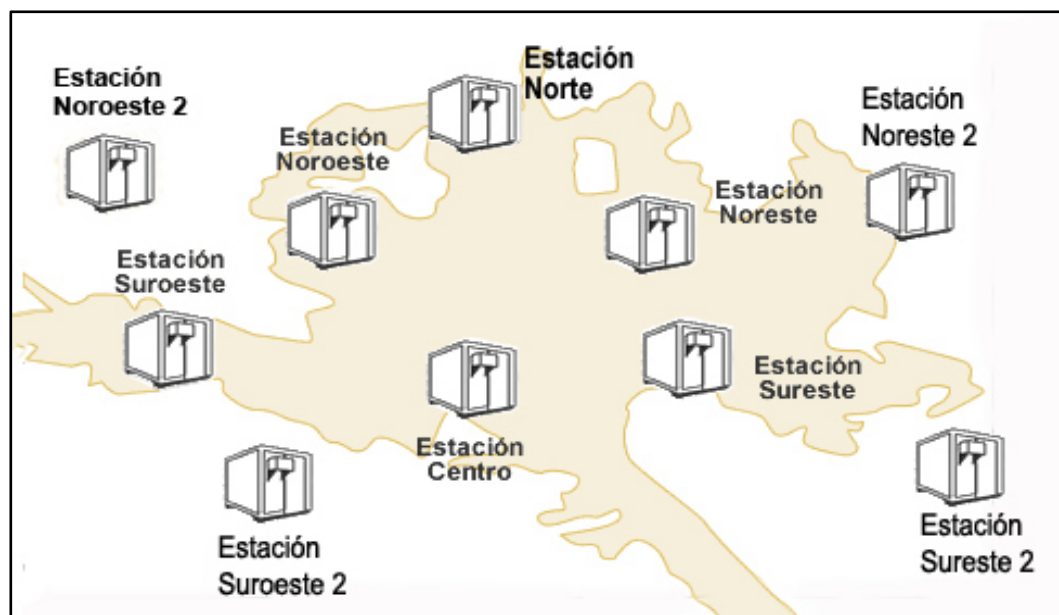


Figura 2. Estaciones de monitoreo que conforman el SIMA del AMM.

En el caso específico de las partículas ambientales, originalmente su evaluación se centraba en las partículas suspendidas totales (PST), sin embargo, la mayoría de las partículas presentes en la atmósfera tienen un diámetro menor a $40\ \mu\text{m}$. Por lo que posteriormente, la mayoría de las investigaciones se enfocaron en el análisis de los efectos en la salud, producto de la exposición a partículas de diámetro aerodinámico menor a $10\ \mu\text{m}$ (PM_{10}). Durante los últimos 15 años, la atención se ha centrado en la evaluación de partículas con diámetro inferior a $2.5\ \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$), y menores a $1\ \mu\text{m}$ (PM_1).⁴⁶ En el caso del AMM, fue a partir del año 2003 que el SIMA, comenzó a evaluar la fracción $\text{PM}_{2.5}$. De 2003 a la fecha la concentración de $\text{PM}_{2.5}$, ha permanecido con valores superiores a $12\ \mu\text{g}/\text{m}^3$, que establece la

Normatividad Mexicana (NOM-025-SSA1-2014), como valor máximo anual (Figura 3).⁴⁷

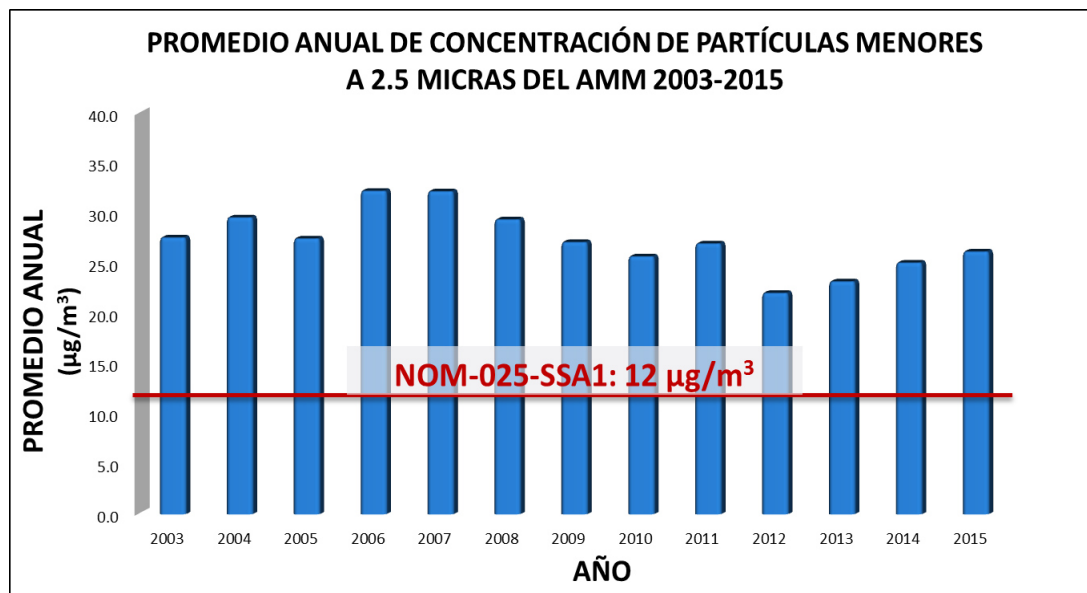


Figura 3. Concentración anual promedio de PM_{2.5} en el AMM, correspondientes al periodo de 2003 - 2015.

Fuentes de Emisión en el AMM

Como en la mayoría de las áreas altamente urbanizadas las emisiones tanto de PM como de PAHs, se han asociado con el intenso tráfico vehicular y la alta densidad industrial. En este sentido a la fecha el AMM, conformada por los municipios de Apodaca, Cadereyta Jiménez, García, San Pedro Garza García, Gral. Escobedo, Guadalupe, Juárez, Monterrey, Salinas Victoria, San Nicolás de los Garza, Santa Catarina y Santiago, cuenta con un parque vehicular de 1,976,160 automóviles registrados, que representan el 90% del parque vehicular de todo el estado.⁴⁸

Con respecto a las actividades industriales, actualmente se cuenta con 12,632 unidades activas registradas, entre las que destacan la fabricación de productos derivados del petróleo y del carbón, con la mayor producción bruta en el estado, la industria metálica básica, la fabricación de productos metálicos, la fabricación de equipos de transporte y la industria alimentaria.⁴⁹

De especial interés es la presencia de una de las seis refinerías de petróleo presentes en el país, ubicada en el municipio de Cadereyta Jiménez N.L., 33 km al sureste de la ciudad de Monterrey, la cual inicio operaciones en el año de 1979, que a la fecha cuenta con un área total de 765 Ha., y una capacidad de procesamiento de 275 mil barriles diarios, que representan el 15.6% de la producción nacional.⁵⁰

De acuerdo al inventario de emisiones del AMM, para el año 2005, el 35% del total de emisiones generadas por fuentes fijas, se atribuía a la industria del petróleo y petroquímica.⁵¹

1.5 Refinación de petróleo como fuente de PAHs a la atmósfera

La refinación de petróleo es una actividad industrial que se ha relacionado de manera importante con la generación y liberación de PAHs a la atmósfera. Diversas investigaciones a nivel internacional han evaluado su impacto al ambiente, a través de mediciones puntuales o en sitios cercanos a sus instalaciones.⁵²⁻⁵⁶ Si bien la mayor parte de la información disponible, proviene de estudios en los que se han evaluado la concentración de PAHs asociados a

partículas suspendidas totales y a fracción PM_{10} , estos estudios ponen de manifiesto la importancia de esta actividad sobre el contenido de PAHs en la atmósfera.

En Argelia, una de las regiones petrolíferas más importantes de África, se caracterizaron y cuantificaron los gases emitidos por las antorchas durante los procesos de extracción y refinamiento de petróleo, las concentraciones de PAHs estuvieron en el rango de los 13.4 a 57.8 ng/m^3 .⁵⁶ Rehwagen y colaboradores realizaron un estudio intercontinental en el que se incluyeron los países de Argentina y Alemania. La región de la Plata en Argentina se caracteriza por ser una zona fuertemente industrializada, con presencia de una las refinerías de petróleo más importantes del país; por su parte Leipzig, Alemania es una región altamente urbanizada, donde las principales fuentes de contaminación del aire son el tráfico y las calefacciones domésticas. Sus resultados indicaron una concentración de PAHs totales dos veces más altas en la zona industrial de La Plata, que lo registrado en el área urbana de esa misma ciudad, y hasta 4 veces más altas que en la zona urbana de Leipzig.⁵⁵

Resultados semejantes reportaron Di Filippo y colaboradores en 2010, para uno de los complejos industriales más importantes del sur de Italia. En sus resultados, la zona industrial mostró concentraciones 6.5 veces por encima de lo cuantificado en la zona urbana, y hasta 20 veces más elevadas que en el área rural.⁵³ Otro de los trabajos en los que se destaca la importancia de la industria del petróleo como fuente de PAHs, es el de Rao y colaboradores, en la costa oeste de la India, donde se evaluaron las concentraciones de PAH

asociados a partículas suspendidas totales (SPM), en 6 sitios alrededor de una refinería de petróleo, y se compararon con los resultados obtenidos en 5 ciudades del mismo país. En sus resultados se observaron concentraciones entre 30 y 100 veces mayores en los sitios ubicados en los alrededores de la refinería, en comparación con las zonas urbanas.⁵⁴

En el caso específico de la evaluación de PAHs, asociados a PM_{2.5}, Cazier y colaboradores, compararon los niveles de PAHs en áreas urbanas, rurales e industriales, de una región al norte de Francia. En sus resultados se reportaron concentraciones 2 veces más altas en el área industrial en comparación con el área urbana y hasta 5 veces mayores que en el área rural.⁵²

México, actualmente cuenta con 6 refinerías de petróleo, las cuales se encuentran distribuidas principalmente en la región centro y sur del País, únicamente una se ubica en la región noreste, dentro del Área Metropolitana de Monterrey (Figura 4). A pesar de la importancia de este tipo de industria en el país, no se encontraron estudios disponibles en la literatura, en los cuales se hayan evaluado los niveles de PAHs asociados a partículas, en áreas cercanas a estas instalaciones. La mayor parte de la información disponible proviene de estudios en los que se evaluó la concentración de PAHs en sedimentos, sistemas lagunares y algunos organismos como peces, crustáceos y moluscos, de áreas con intensa actividad petrolera, al sureste del país.⁵⁷⁻⁵⁹



Figura 4. Refinerías de la República Mexicana (Fuente: Industria Petrolera Mexicana, 2016)

Considerando la importante presencia de esta tipo industria en el país, y su importancia en la generación y liberación de PAHs al medio, es que resulta necesario la evaluación constante y puntual de estos contaminantes atmosféricos, así como la evaluación de sus posibles efectos en la salud, en especial en poblaciones vulnerables, con el fin de aportar información que nos permita proponer planes de acción que garanticen ambientes más saludables para la población.

Justificación

El AMM se caracteriza por ser una zona de alta densidad poblacional, con intenso tráfico vehicular y elevada actividad industrial. De particular importancia en los últimos 30 años es la presencia de la industria de la refinación de petróleo, actividad que ha sido fuertemente relacionada con la generación de PAHs, contaminantes de alto impacto a la salud, conocidos por su potencial cancerígeno.

Por lo anterior en este trabajo se evaluó la concentración de 1-OHP urinario, un marcador biológico de exposición a PAHs en niños que residen en un área cercana a la “Refinería”, el contenido de PAHs en las PM_{2,5}, así como el riesgo a la salud asociado a la exposición a los PAHs.

Objetivos

Objetivo general

Determinar los niveles de 1-hidroxipireno en población infantil de la zona urbana de Cadereyta Jiménez, Nuevo León y su relación con el contenido de PAHs en PM_{2.5}

Objetivos específicos

1. Determinar el contenido de PAHs asociados a partículas ambientales PM_{2.5} en muestras colectadas en el municipio de Cadereyta Jiménez, N.L.
2. Cuantificar los niveles de 1-hidroxipireno urinario en población infantil del municipio de Cadereyta Jiménez, N.L.
3. Evaluar la relación entre la excreción de 1-hidroxipireno urinario y el contenido de PAH's en PM_{2.5}.

CAPÍTULO II

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

Cadereyta Jiménez es uno de los 12 municipios que integran el Área Metropolitana de Monterrey (AMM), se encuentra bajo la categoría de municipio exterior¹. Cuenta con área total de 1,004 km², que representan el 1.8% de la superficie del estado de Nuevo León, su uso de suelo es predominantemente agrícola (50%) y sólo el 1% es urbano.^{60,61}

Su clima es semicálido y subhúmedo con lluvias escasas, el rango de precipitación se encuentra entre los 600 y 800 mm anuales; los meses con mayor índice de precipitación son de agosto a enero y los de menor precipitación son de febrero a mayo. La temperatura promedio para esta región es de 24°C con mínimas de -5°C y máximas de 44°C. Los vientos predominantes son de este a noreste en marzo y abril, del sur y sureste en julio y agosto, y del norte de septiembre a febrero.^{61,62}

¹ Los municipios exteriores definidos con base en criterios estadísticos y geográficos, son municipios contiguos a los municipios centrales, y cuyas localidades no están conurbadas a la ciudad principal, pero que manifiestan un carácter predominantemente urbano, al tiempo que mantienen un alto grado de integración funcional con los municipios centrales de la zona metropolitana.

De acuerdo con el II Censo de Población y Vivienda del 2010, el municipio cuenta con una población total de 86,445 habitantes, 50.8 % hombres y 49.2% mujeres, de los cuales el 24% son menores de 12 años.⁶³

2.2 Metodología de muestreo.

2.2.1 Muestreo ambiental

El equipo de muestreo se instaló en el techo de la Clínica Municipal y Servicios de emergencia del municipio de Cadereyta Jiménez (25°36'2.73"N, 99°59'42.12"O), 4.5 km al oeste de la refinería "Ing. Héctor R. Lara Sosa" (Figura 5).

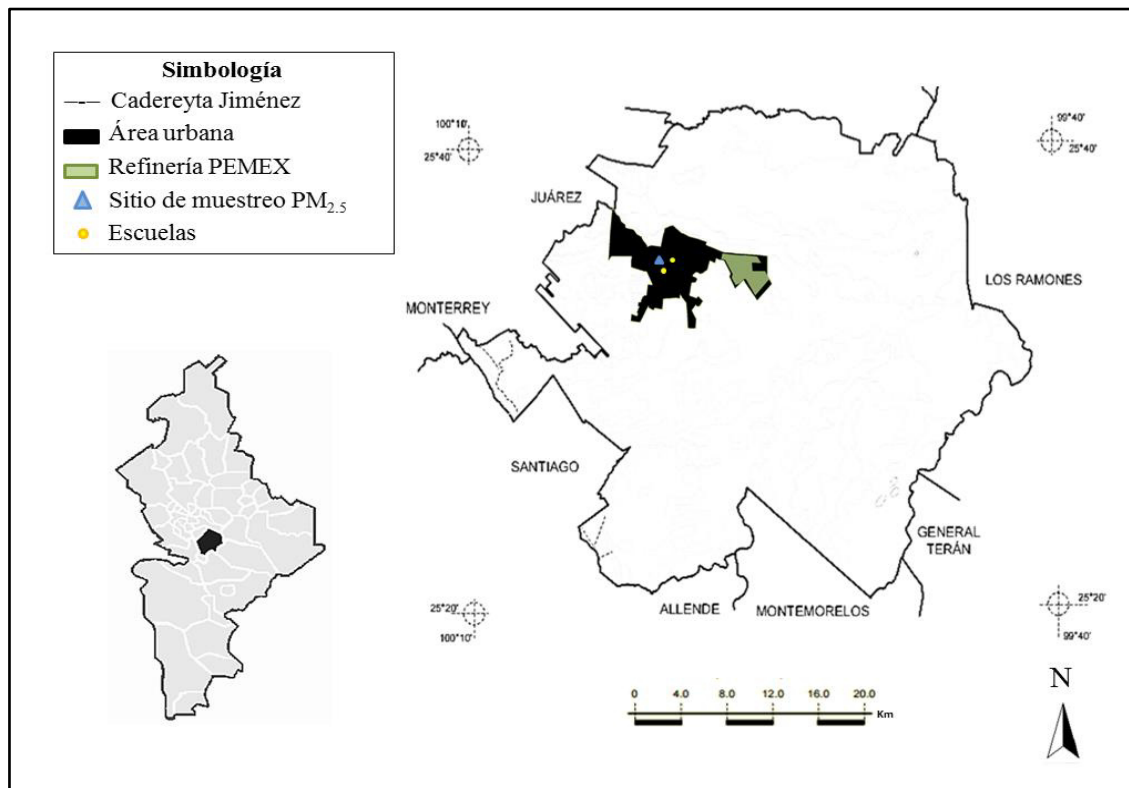


Figura 5. Mapa de localización de los sitios de muestreo ambiental y biológico.

(Fuente: Información topográfica, escala 1: 250,000, INEGI, 2009).

- **Obtención de las muestras ambientales**

Las muestras de $PM_{2.5}$ se obtuvieron mediante muestreo activo, utilizando un muestreador de alto volumen (High-Vol TISH® Environmental), con separador para $PM_{2.5}$ (Figura 6).



Figura 6. Equipo de muestreo instalado.

Los muestreos se realizaron cada seis días, de los meses de julio de 2014 a junio de 2015, con excepción de los meses de octubre y noviembre de 2014. La duración de cada muestreo fue de 24 ± 1 h, con un flujo de aire promedio de $69.5 \text{ m}^3/\text{h}$. Los días de lluvia o con una humedad relativa mayor al 80%, el muestreo fue reprogramado para el día siguiente, hasta por tres días posteriores a la fecha establecida.

Para la obtención de las muestras, se utilizaron como medio de colecta filtros de fibra de vidrio GF/A Whatman (8 x 10 pulgadas), tratados y acondicionados, como se describe a continuación.

- **Preparación del equipo y material de muestreo**

- **Preparación del filtro:** A cada filtro se le hizo una inspección visual a contra luz, con el fin de detectar daños físicos, como orificios u otras imperfecciones. Posteriormente los filtros se envolvieron en papel aluminio y se hornearon en una mufla a 500°C por 4 horas, con el fin de eliminar cualquier traza de compuesto orgánico que pudiera interferir en el análisis de los PAHs, y se guardaron en bolsas resellables (Ziploc®) hasta su acondicionamiento.

- **Acondicionamiento del filtro:** Para el acondicionamiento cada filtro fue marcado con la fecha correspondiente al día de muestreo, una vez identificados se colocaron en un desecador con silica gel, por un lapso 24 h. a una temperatura de $20 \pm 5^\circ \text{C}$ y una humedad relativa <50 %. Se pesaron en una balanza analítica, con sensibilidad de hasta 0.01mg, se envolvieron en papel aluminio, y se guardaron en una bolsa resellable, para ser transportados al sitio de muestreo.

- **Calibración del equipo:** El equipo se calibró al inicio del periodo de muestreo, y después de cada 700 horas de uso, esto como parte del mantenimiento del equipo. El procedimiento para la calibración de equipo se detalla en el Apéndice 2.

- ***Obtención y conservación de las muestras de PM_{2.5}***

Para la obtención de las muestras, se colocó el filtro preparado y numerado en el portafiltros y se colocó en el equipo, se registró la caída de presión con el manómetro y se dejó en funcionamiento por un periodo de 24 ± 1 h. En la hoja de registro se incluyó la información necesaria para el cálculo de la concentración de PM_{2.5} (Apéndice 3).

Transcurridas 24 h. de muestreo se registró nuevamente la caída de presión con el manómetro, se apagó el equipo y cuidadosamente se retiró el filtro impregnado con partículas, inmediatamente después el filtro se dobló longitudinalmente, con la muestra hacia el interior, se envolvió en aluminio y se guardó en una bolsa resellable, para ser transportado hasta el laboratorio. En el laboratorio el filtro impregnado con las PM_{2.5} fue nuevamente acondicionado por un lapso de 24 h. a las condiciones iniciales, se pesó y se almacenó a -70° C hasta el análisis de PAHs.

2.2.2 Muestreo biológico

El reclutamiento de los participantes se realizó en dos escuelas primarias, ubicadas a 500 metros del sitio donde se instaló el equipo de muestreo de partículas. Durante el verano de 2014 los padres de familia fueron invitados a asistir a una de las pláticas informativas, donde se les proporcionó la información detallada sobre los objetivos del proyecto, y el mecanismo de participación de los menores, el cual incluía la entrega de dos muestras de orina en dos diferentes periodos, así como la aplicación de un cuestionario,

sobre información sociodemográfica, hábitos de consumo, exposición a humo de tabaco y a fuentes de combustión doméstica (Apéndice 6).

Los padres que aceptaron la participación de sus hijos en el estudio, lo hicieron mediante firma de consentimiento informado (Apéndice 7). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con el número de registro: FA15-002.

El cálculo para el tamaño de muestra se hizo utilizando una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos medias, con un valor $z\alpha$ de 1.96, un nivel de significancia del 95% para dos colas, y un valor $z\beta$ de 1,28, con una potencia de 90%, y se obtuvo un tamaño mínimo de muestra de 79 participantes. Los criterios de inclusión, exclusión y rechazo, se muestran a continuación:

- **Criterios de inclusión**

- Niños 5-12 años de edad
- Residentes del área, por al menos durante el último año.
- Que los padres aceptaran su participación en el estudio, mediante firma de consentimiento informado.

- **Criterios de exclusión**

- No cumplir con los criterios de aceptación

- **Criterios de rechazo**

- Insuficiente cantidad de muestra entregada.
- No cumplir con la entrega de las dos muestras programadas.

- **Obtención de las muestras biológicas**

Considerando el antecedente de que los PAHs presentan un comportamiento estacional, caracterizado por altas concentraciones en invierno y bajas en verano, se consideró incluir dos periodos de muestreo, uno durante el verano y uno durante el invierno.^{47,64} La colecta de las muestras de verano se realizó durante la última semana del mes agosto de 2014, la de invierno, durante última semana del mes de enero de 2015.

La primera orina de la mañana, fue colectada por los padres de familia, en vasos de polietileno de 100 mL, debidamente etiquetados, los cuales fueron entregados el mismo día de la colecta, para ser transportados bajo condiciones de refrigeración (7-10° C) hasta el laboratorio, donde las muestras fueron filtradas a través de filtros Millipore de 0.45µm, y almacenadas en tubos de polipropileno, en alícuotas de 10 mL a -20°C, hasta su análisis.

Para el segundo periodo de colecta, se entregó nuevamente un recipiente a los padres de familia, las muestras fueron colectadas a la mañana siguiente y transportadas al laboratorio, para ser tratadas como se indicó anteriormente.

2.3 Métodos analíticos.

2.3.1 Determinación de PM_{2.5}.

La determinación de las PM_{2.5}, se hizo mediante métodos gravimétricos, es decir, métodos en los cuales la determinación de las sustancias se obtiene a partir de una diferencia de pesos.⁴⁶

Las PM se determinaron pesando el filtro, a temperatura y humedad relativa controlada, antes y después del muestreo, y para expresarlo en metros cúbicos se consideró el volumen de aire muestreado, el cálculo de $PM_{2.5}$ se muestra a detalle en el Apéndice 4.

- **Obtención de los parámetros meteorológicos**

Durante la temporada de muestreo, los parámetros meteorológicos de temperatura, precipitación, humedad relativa, presión atmosférica, radiación solar, dirección y velocidad del viento, se obtuvieron de las dos estaciones meteorológicas más cercanas al sitio de muestro, que corresponden a la estación “Sureste 2” del Sistema de Monitoreo Atmosférico del Área Metropolitana de Monterrey (25° 38' 44"N, 100° 5' 42"O) y la estación “Cadereyta” de la Comisión Nacional del Agua (25° 35' 25"N, 99° 58' 30"O).

2.3.2 Determinación del contenido de PAHs en las $PM_{2.5}$

La determinación de los PAHs (Naftaleno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo [a] antraceno, Criseno, Benzo [b] fluoranteno, Benzo [k] fluoranteno, Benzo [a] pireno, Dibenzo [ah] antraceno, Benzo [ghi] perileno, Indeno [1,2,3cd] perileno), se hizo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). El método utilizado para la determinación de PAHs en el estudio, fue previamente estandarizado en el laboratorio del Departamento de Farmacología y Toxicología, por González-Santiago, en 2009.⁶⁵ Para llevar a cabo este estudio se realizó una revalidación

completa del método. Las características y resultados de ésta, se presentan en el Apéndice 8-A.

- ***Procesamiento de las muestras***

Para el procesamiento de las muestras se cortó una tira de la sección central de 1 x 8 pulgadas de los filtros conservados a -70°C y se colocó en un frasco ámbar para llevar a cabo la extracción de los PAHs.

Para la extracción se adicionaron a cada frasco 30 mL de los solventes diclorometano y acetonitrilo (2:1). Los frascos se introdujeron en un baño de ultrasonido por 30 minutos, a temperatura ambiente, con recambio de agua cada 10 minutos para evitar calentamiento. Posteriormente, el filtro fue retirado del frasco, y la solución de extracción fue reducida a 2 mL usando corriente de nitrógeno y baño de agua a 45°C. Este volumen fue filtrado con filtros Milipore de 0.45 µm, y reducido nuevamente a un volumen final de 200 µL, finalmente fue transferido a un vial ámbar de 1.5 mL con tapa de silicón y septa de PTFE, para su análisis.

- ***Análisis de las muestras***

El análisis de las muestras se llevó a cabo en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución, HP Agilent 1100 con automuestreador y bomba cuaternaria, acoplado a un detector de fluorescencia, se utilizó una columna Supelcosil PAHs de 4.6 de diámetro interno X 250 mm de longitud y 5 µm de tamaño de partícula. La calibración del sistema cromatográfico fue establecida con un estándar de 16 PAHs en acetonitrilo (36979 Sigma-Aldrich). Las condiciones de

operación finales, del sistema cromatográfico para el análisis de los PAH's se presentan a continuación.

Tabla 4. Condiciones de operación del HPLC para la determinación de PAHs.

Fase móvil	A agua
	B acetonitrilo
Elución	Gradiente
	A-B 40-60 % minuto 0
	A-B 40-60 % minuto 11
	A-B 0-100 % minuto 12
	A-B 0-100 % minuto 24
	A-B 0-100 % minuto 25
	A-B 40-60 % minuto 30
Temperatura	27° C
Flujo	1.5 mL/min
Volumen de inyección	20 µl
Tiempo de análisis	30 minutos

- ***Determinación cuantitativa de PAHs***

Para el análisis cuantitativo, se identificó cada uno de los PAHs, comparando el tiempo de retención de la muestra con el tiempo de retención del estándar correspondiente, se integró el área bajo la curva (ABC) de cada uno de los PAH identificados y se aplicó la ecuación de recta, obtenida durante la validación.

La concentración de cada PAH fue reportada en ng/m^3 , por lo que fue necesario hacer la transformación de ng/m^3 a partir de $\mu\text{g/mL}$, como se indica en el Apéndice 5.

2.3.3 Determinación de 1-hidroxipireno urinario

La determinación de 1 hidroxipireno urinario se hizo de acuerdo al método "Determinación de 1-Hidroxipireno en orina. Método de hidrólisis enzimática y detección fluorimétrica/cromatografía líquida de alta resolución". El cual es un método aceptado bajo la clave MTA/MB-023/A99, por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) de España.⁶⁶

El método utilizado fue previamente estandarizado en el laboratorio, la validación del método y los resultados de la misma, se presentan en el Apéndice 8-B.

- ***Procesamiento de las muestras***

Para su procesamiento las muestras de orina se descongelaron a temperatura ambiente, a cada alícuota de 10 mL, se le añadieron 50 μL de la enzima β -glucuronidasa/arilsulfatasa (*Helix pomatia* tipo HP-2/ 98000U/mL, SIGMA) y 10 mL de una solución amortiguadora de ácido acético 0.2 M a pH 5.0. Las muestras se introdujeron en un baño de agitación orbital a 70 rpm (rotaciones por minuto) y 37°C por 18 h.

- ***Extracción del 1-OHP***

Para la extracción sólido-líquida, se utilizaron columnas Octadecil C18 SPE con volumen de 6mL y 500mg de adsorbente (Resprep®). Las columnas Octadecil C18 SPE, se activaron con 5 mL de acetonitrilo, se acondicionaron con 10 mL de agua bidestilada, se introdujo la muestra de orina, y para el lavado se utilizaron 10 mL de agua bidestilada y acetonitrilo (9:1).

Para la elusión del analito se utilizaron 5 mL de acetonitrilo, el eluato fue recuperado en tubos de ensayo y llevado a sequedad, mediante corriente de nitrógeno y baño de agua a 50°C. El residuo se reconstituyó en 1 mL de acetonitrilo, la disolución que se obtuvo fue filtrada con filtro Millipore de 0.45 µm de tamaño de poro y se transfirió a un vial ámbar de 1.5 mL con tapa de silicón y septa de PTFE, para su análisis.

- ***Análisis de las muestras***

Para el análisis de las muestras, se aplicó el método previamente validado (Apéndice 8-A). El análisis se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución, HP Agilent 1100 con automuestreador y bomba cuaternaria, acoplado a un detector de fluorescencia, se utilizó una columna Zorbax C18 de 3.0 mm de diámetro interno x 150mm de longitud y 3.5 µm de tamaño de partícula. La calibración del sistema cromatográfico se estableció utilizando el estándar de 1-hidroxipireno (361518 Sigma-Aldrich). Las condiciones de operación del sistema cromatográfico, para el análisis de 1-hidroxipireno se presentan a continuación:

Tabla 5. Condiciones de operación final del HPLC para la determinación de 1-OHP.

Fase móvil	A agua B acetonitrilo
Elución	Isocrática A-B 50-50 % minuto 0 - 15
Longitud de onda	Excitación 242 nm Emisión 388 nm
Temperatura	30° C
Flujo	0.7 mL/min
Volumen de inyección	15 µL
Tiempo de análisis	8.5 minutos

- **Determinación cuantitativa de 1-OHP**

Para el análisis cuantitativo del 1-OHP, se identificó el analito, comparando el tiempo de retención de la muestra con el tiempo de retención del estándar, se integró el área bajo la curva (ABC) de cada muestra analizada y se aplicó la ecuación de recta obtenida durante la validación.

La concentración de 1-OHP fue corregida por la concentración de creatinina urinaria, y los resultados se reportaron en µmol 1-OHP/mol de creatinina (µmol/mol creatinina).

La determinación de creatinina en orina se realizó de acuerdo al método de Jaffé, los límites de aceptabilidad en las muestras de orina se establecieron de acuerdo a la NOM-047-SSA1-2011.⁶⁷

2.4. Análisis de datos

2.4.1 Análisis estadístico de la concentración de PM_{2.5} y PAHs

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS Statistics versión 19.0 (IBM, Armonk, NY, USA). Para determinar la distribución y tipo de tratamiento estadístico de los datos, se aplicó una prueba de Kolmogorov-Smirnov para corroborar normalidad y una prueba de Levene para corroborar la igualdad de varianzas. Los datos no siguieron una distribución normal, por lo que se utilizaron pruebas no paramétricas.

El análisis incluyó la estadística descriptiva de todas las variables, y considerando que en estudios anteriores se ha observado un comportamiento estacional en la concentración de PM_{2.5} y PAHs, los datos fueron organizados en 3 periodos: verano correspondiente a los meses de julio, agosto y septiembre de 2014; invierno, correspondiente a los meses de diciembre 2014 a marzo 2015, y primavera que incluyó los meses de abril a junio de 2015.

Para identificar diferencias significativas entre los periodos de muestreo, se aplicó una prueba Kruskal-Wallis. Para establecer la relación entre la concentración de PM_{2.5}, el contenido de PAHs y la influencia de los parámetros meteorológicos, se aplicó un análisis de correlación de Spearman. Para establecer diferencias significativas se consideraron valores de probabilidad menores a 0,05 ($p < 0,05$).

2.4.2 Identificación de las fuentes de emisión de PAHs

Con el fin de identificar las fuentes que contribuyeron en la emisión de los PAHs, se utilizó el método de radios diagnósticos.

Este método se basa en identificar la concentración de un grupo específico de PAHs, y establecer una relación entre ellos, teniendo en cuenta que éstos se diluyen en un grado similar; por lo tanto, las proporciones se mantienen constantes en la trayectoria desde la fuente a los receptores.⁶⁸ Las proporciones en nuestro estudio fueron calculados para los tres periodos de muestreo con el fin de analizar las variaciones estacionales y discernir si las fuentes de emisión fueron similares durante todo el año. Los radios diagnósticos calculados en el presente estudio para PM_{2.5} ambiente se compararon con los valores reportados en la literatura (Tabla 6).

Tabla 6. Radios diagnósticos utilizados para identificar fuentes de PAHs.

Proporción	Fuentes				
	Diesel	Gasolina/ tráfico	Hornos industriales	Refinería	Quema de carbón/coque
Flt/(Flt+Pyr)	0.46 ⁷⁰	0.40 ⁷²			
Ind/(Ind + BgP)	0.3-0.7 ²⁰	0.18 ^{70, 72}	0.36-0.57 ⁷²	0.33-0.49 ⁷³	0.56 ^{20, 74, 75}
BaA/(BaA+Chry)	0.38-0.6 ⁷⁰		0.2–0.9 ⁷²		
BaP/(BaP+Chry)	0.50 ²⁰	0.73 ^{20, 74}		0.26-0.72 ⁷³	
BaA/BaP	0.9-1.7 ⁷¹	0.5-0.7 ⁷¹			
BaP/BgP				0.6-1.7 ⁶⁹	
Ind / BgP		<0.40 ²⁰	1.07 ⁷⁵	0.48-0.94 ⁷³	

2.4.3 Estimación del riesgo carcinogénico por exposición a PAHs

Para la estimación del riesgo carcinogénico por exposición a PAHs, se consideró la exposición a las concentraciones atmosféricas de benzo(a)pireno y a la mezcla compleja de PAHs, como equivalentes de benzo(a)pireno (BaP_{eq}).^{28,33}

Para el cálculo de los BaP_{eq} , se utilizó la concentración individual de cada uno de los PAHs y su factor de equivalencia tóxica (TEF), que corresponde a la potencia de riesgo de producir cáncer de cada uno de los PAHs, en relación a la potencia del BaP.³⁴ Los factores de equivalencia tóxica considerados en este estudio fueron los propuestos por Nisbet y LaGoy (Tabla 7).

Tabla 7. Factores de equivalencia toxica (TEFs)

PAHs	TEF
Naftaleno (Na)	0.001
Fenantreno (Fe)	0.001
Fluoranteno (Flt)	0.001
Pireno (Pir)	0.001
Benzo (a) antraceno (BaA)	0.1
Criseno (Cri)	0.01
Benzo (b) fluoranteno (BbF)	0.1
Benzo (k) fluoranteno (BkF)	0.1
Benzo (a) pireno (BaP)	1
Dibenzo (ah) antraceno (DBA)	1
Benzo (ghi) perileno (BgP)	0.01
Indeno (123-cd) pireno (Ind)	0.1

2.4.4 Análisis estadístico de la concentración de 1-OHP

El análisis de la concentración de 1-OHP, también incluyó la estadística descriptiva de todas las variables. Para identificar diferencias en los niveles de 1-OHP con respecto a los periodos de muestreo se utilizó una prueba de Wilcoxon, mientras que para identificar diferencias en los niveles de 1-OHP, por género, edad, exposición a humo de tabaco, frecuencia de consumo de alimento asados, y fuentes de emisión domésticas, se utilizaron las pruebas U de Mann Whitney y Kruskal-Wallis.

Para establecer la relación entre los niveles de 1-OHP de cada periodo de muestreo y las covariables consideradas se aplicó un análisis de correlación de Spearman.

Los resultados se consideraron significativos cuando los valores de probabilidad fueron menores a 0,05 ($p < 0,05$).

.

CAPÍTULO III

III. RESULTADOS

3.1 Determinación de partículas $PM_{2.5}$ en muestras ambientales

Se obtuvieron un total de 48 muestras ambientales. La concentración promedio anual de partículas $PM_{2.5}$ fue de $16.4 \pm 7.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Las concentraciones promedio diarias, se ubicaron en el rango de los 6.8 a los $45.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Figura 7).

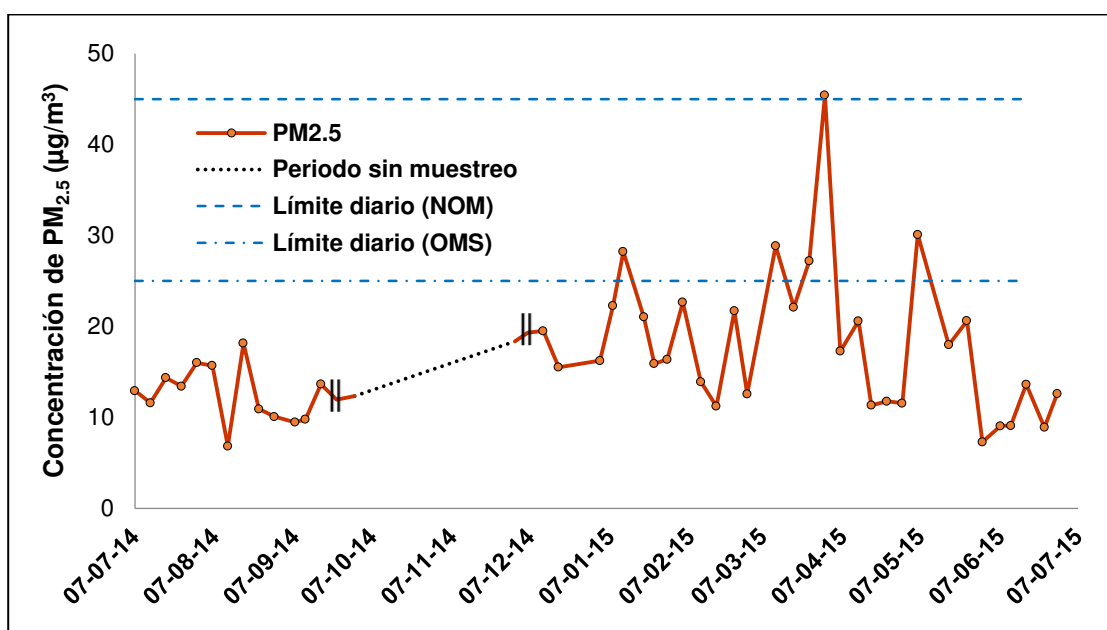


Figura 7. Concentración promedio diaria de $PM_{2.5}$ durante el periodo de muestreo.

Las concentraciones de $PM_{2.5}$ fueron significativamente mayores durante el invierno en comparación con los meses de verano y primavera. Para invierno la concentración promedio de $PM_{2.5}$ fue de $21 \pm 7.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$, para las temporadas de

verano y primavera las concentraciones fueron de 12.5 y 14.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectivamente (Tabla 8).

Tabla 8. Variación estacional en la concentración de $\text{PM}_{2.5}$ (Media \pm DE).

	Verano	Invierno	Primavera	p-valor
$\text{PM}_{2.5}$ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	12.5 \pm 2.9	21 \pm 7.8	14.4 \pm 6.3	<0.05*
Min- Max	(6.8 - 18.1)	(11.2 - 45.4)	(7.3-30)	

* Diferencia significativa ($p < 0.05$), prueba de Kruskal-Wallis.

3.2 Validación del método analítico para cuantificación de PAHs

Para la cuantificación de los PAHs asociados a partículas $\text{PM}_{2.5}$, se llevó a cabo la validación del método analítico. Todos los parámetros considerados durante la validación del método, cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de acuerdo al método 8000-B de la EPA.⁶⁹ Los resultados individuales de cada parámetro evaluado se presentan en el Apéndice 8-A, los resultados correspondientes al promedio de cada parámetro evaluado para los PAHs validados se muestran en la Tabla 9.

El intervalo de calibración, para la validación del método estuvo entre los 19.53-312.5 ng/mL (0.02-0.34 ng/m^3).

Tabla 9. Resultados de la validación del método para la determinación de PAHs.

Parámetro	Criterio	Resultado	Evaluación
Linealidad	Coef. Correl ≥ 0.990	0.999	Pasa
	Error $\leq 15\%$ y 20% LIC	8.50%	
Repetibilidad	Precisión: CV% $<15\%$ y $<20\%$ LIC	5.5%	Pasa
	Exactitud: %E $<15\%$ y $<20\%$ LIC	4.4%	
Reproducibilidad	Precisión: CV% $<15\%$ y $<20\%$ LIC	4.0%	Pasa
	Exactitud: %E $<15\%$ y $<20\%$ LIC	5.3%	
Límite de cuantificación	CV% $<20\%$ LIC	6.76%	Pasa
Límite de detección	LD $<$ LIC	7.06 ng/mL	Pasa

3.3. Determinación de PAHs asociados a PM_{2.5}

Doce de los 16 PAHs validados tuvieron valores superiores al límite inferior de cuantificación (LIC). Estos doce PAHs fueron el naftaleno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo [a] antraceno, criseno, benzo [b] fluoranteno, benzo [k] fluoranteno, benzo [a] pireno, dibenzo [ah] antraceno, benzo [ghi] perileno e Indeno [1,2,3-cd] pireno. El acenafteno, fluoreno y antraceno, pudieron ser detectados, sin embargo, se encontraron por debajo del límite de cuantificación (LC), mientras que el acenaftileno no pudo ser detectado ni cuantificado, debido a la débil señal que emite.

La concentración promedio de PAHs totales fue de 1.08 ng/m³. Las concentraciones diarias de PAHs totales estuvieron en el rango de los 0.37-2.65 ng/m³ (Figura 8).

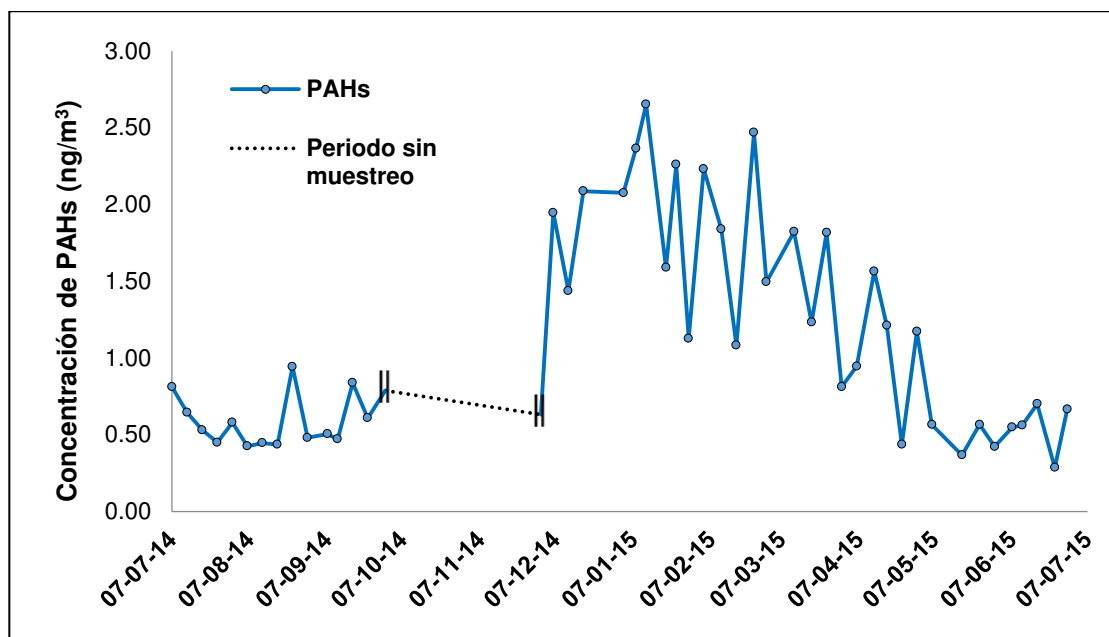


Figura 8. Concentración diaria de PAHs totales durante el periodo de muestreo.

3.3.1 Concentración mensual de los PAHs individuales.

En la Tabla 10 se presentan los resultados de los promedios mensuales de PAHs individuales. Los PAHs que presentaron las concentración medias más altas durante todo el periodo de muestreo, fueron el benzo [ghi] perileno, Indeno [1,2,3-cd] pireno, benzo [b] fluoranteno y benzo (a) pireno. Los PAHs que presentaron las concentraciones más bajas fueron el naftaleno, fenantreno y fluoranteno, los tres correspondientes a PAHs de bajo peso molecular.

Tabla 10. Concentración mensual de PAHs (ng/m³).

	Jul	Ago	Sep	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
Na	0.03	0.03	0.04	0.07	0.05	0.05	0.03	0.03	<LIC	<LIC
Fe	0.03	0.03	0.02	0.05	0.08	0.06	0.06	0.06	0.03	0.03
Flt	0.03	0.04	0.03	0.08	0.15	0.13	0.09	0.07	0.03	0.04
Pir	0.05	0.04	0.05	0.13	0.16	0.16	0.12	0.09	0.04	0.04
BaA	0.02	0.03	0.03	0.13	0.15	0.18	0.09	0.09	0.02	0.03
Cri	0.03	0.03	0.03	0.14	0.20	0.21	0.12	0.08	0.03	0.03
BbF	0.04	0.05	0.05	0.17	0.24	0.23	0.18	0.16	0.04	0.04
BkF	0.03	0.03	0.03	0.22	0.18	0.15	0.13	0.10	0.02	0.03
BaP	0.04	0.03	0.04	0.14	0.23	0.23	0.15	0.11	0.03	0.03
DBA	0.03	0.03	0.03	0.06	0.08	0.03	<LIC	<LIC	<LIC	0.03
BgP	0.20	0.16	0.25	0.23	0.29	0.29	0.27	0.21	0.20	0.21
Ind	0.11	0.09	0.13	0.13	0.22	0.22	0.20	0.11	0.05	0.07
Σ PAHs	0.62	0.59	0.72	1.54	2.04	1.93	1.44	1.11	0.50	0.58

<LIC: Inferior al límite de cuantificación.

3.3.2 Caracterización de los PAHs

De los PAHs asociados a las partículas, el 78% fueron PAHs de alto peso molecular, como el BaA, Cri, BbF, BkF, BaP, DBA, BgP e Ind. La concentración individual, así como la contribución relativa de cada uno de los PAHs, durante las diferentes temporadas de muestreo se presentan en la figura 9.

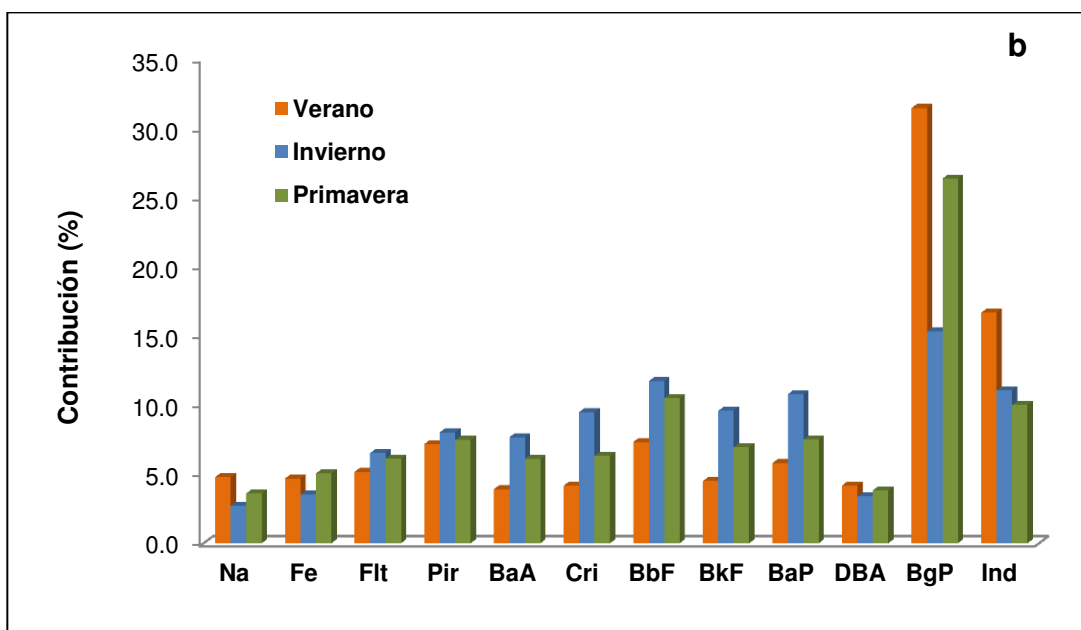
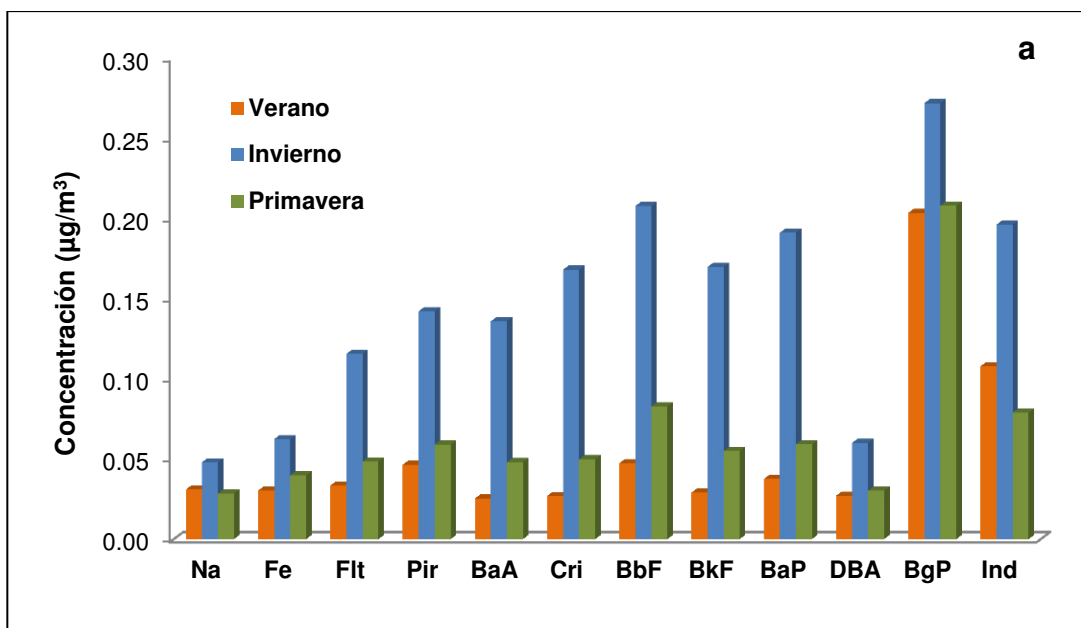


Figura 9. Concentración individual de PAHs (a) y contribución relativa de PAHs individuales (b) durante las temporadas de muestreo.

3.3.3 Comportamiento estacional de los PAHs

La concentración de PAHs, también mostró un comportamiento estacional, caracterizado por concentraciones mayores durante los meses de invierno, en comparación con los meses de verano y primavera.

La concentración promedio de PAHs totales durante el invierno fue de $1.74 \pm 0.57 \text{ ng/m}^3$, 2.5 veces más altas que en primavera y verano. El análisis de comparación de medias mostró diferencias estadísticamente significativas entre los periodos de muestreo (Tabla 11).

Tabla 11. Variación estacional en la concentración de PAHs (Media \pm DE).

	Verano	Invierno	Primavera	p-valor
PAHs (ng/m³)	0.65 ± 0.17	1.74 ± 0.57	0.72 ± 0.37	0.000*
Min-Max	(0.43 - 0.94)	(0.63 - 2.65)	(0.37-1.57)	

* Diferencia significativa ($p < 0.05$), prueba de Kruskal-Wallis.

3.4 Correlación con parámetros meteorológicos

Se considera que el comportamiento estacional de los contaminantes ambientales, en buena medida está condicionado por factores meteorológicos como la temperatura, el viento y la radiación. Para determinar la relación que existe entre los parámetros meteorológicos y la concentración de PAHs y PM_{2.5}, se aplicó un análisis de correlación de Spearman.

Los parámetros considerados fueron: temperatura (TEMP), humedad relativa (HR), radiación solar (RDS), velocidad del viento (VV), presión atmosférica (PRS) y precipitación (PP), los promedios por temporada de los parámetros evaluados se presenta a continuación (Tabla 12).

Tabla 12. Valores promedio de los parámetros meteorológicos

Parámetro	Verano	Invierno	Primavera
PM_{2.5} (µg/m³)	12.5 ± 2.9	21 ± 7.8	14.4 ± 6.3
PAHs (ng/m³)	0.65 ± 0.17	1.74 ± 0.57	0.72 ± 0.37
TEMP (°C)	29.1 ± 1.4	15.5 ± 5.2	25.2 ± 2.1
HR (%)	57.7 ± 4.8	76.2 ± 8.7	71.7 ± 5.3
RDS (KW/m²)	0.16 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.15 ± 0.04
VV (Km/hr)	8.1 ± 3.5	6.0 ± 1.3	7.9 ± 2.0
PRS (mmhg)	722.2 ± 1.2	723.8 ± 1.3	721.8 ± 1
PP (mm)	0.01 ± 0.03	0.05 ± 0.07	0.04 ± 0.13

3.4.1 Análisis de correlación

Los resultados del análisis mostraron una correlación significativa con la mayoría de los parámetros meteorológicos considerados (Tabla 13).

Entre la concentración de PM_{2.5} y PAHs, se observó una correlación positiva significativa, es decir cuando aumentan las PM_{2.5}, también se observa un aumento en la concentración de los PAHs. Con respecto a la temperatura, el

análisis mostró una correlación negativa moderada con las $PM_{2.5}$ y una correlación alta con los PAHs, esto sugiere que si la temperatura aumenta la concentración de ambos parámetros disminuye, mientras que si la temperatura disminuye ambos parámetros aumentan. La humedad relativa mostró una correlación positiva moderada, con ambos parámetros. A la vez que la radiación solar y velocidad del viento mostraron una correlación negativa moderada con la concentración de PAHs y $PM_{2.5}$.

Con respecto a la presión atmosférica, el análisis mostró una correlación significativa con la concentración de PAHs, sin embargo, con las partículas la relación no fue tan evidente. Con respecto a la precipitación, en el muestreo se excluyeron los días de lluvia o con una humedad relativa mayor al 80%, por lo que no se evaluó la correlación de este parámetro con la concentración de PAHs. Los niveles de precipitación registrados en la Tabla 12, corresponden a días en los que se presentaron lluvias durante la madrugada, no pronosticadas por los medios locales, por lo que estas muestras no fueron descartadas.

Tabla 13. Análisis de correlación entre parámetros meteorológicos y la concentración de PAHs y $PM_{2.5}$.

	$PM_{2.5}$	PAHs	TEMP	HR	RDS	VV	PRS
$PM_{2.5}$	1.000	0.538**	-0.469**	0.409**	-0.509**	-0.288*	0.091
PAHs	0.538**	1.000	-0.767**	0.440**	-0.622**	-0.561**	0.420**

* Correlación significativa al nivel 0.05

** Correlación significativa al nivel 0.01

3.5 Identificación de las fuentes de emisión de PAHs

Si bien la contribución de algunos PAHs nos permite suponer algunas fuentes de emisión importantes en el área de estudio, el método de radios o proporciones diagnósticas, nos permite identificar de manera más precisa la naturaleza de algunas fuentes de emisión de PAHs, presentes en el área de estudio.

Los resultados de las proporciones obtenidas en el análisis, y con las cuales fueron comparadas se muestran en la Tabla 14. Algunas de las fuentes identificadas, considerando la relación $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pir})$, indicaron que la quema de combustibles fósiles, tanto de gasolina como diésel fueron las fuentes más comunes. Los valores obtenidos en la relación $\text{Ind}/(\text{Ind} + \text{BgP})$ también indicaron emisiones asociadas a la quema de diésel y gasolina, así como emisiones asociadas a la industria, tanto de emisiones por hornos industriales, como emisiones asociadas a actividades de refinación. Resultados semejantes aportan los valores obtenidos de las proporciones de $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Cri})$ y $\text{BaP}/(\text{BaP}+\text{Cri})$, que indicaron fuentes relacionadas con la industria.

Los valores obtenidos las relaciones BaP/BgP e Ind/BgP , nos permiten suponer una importante influencia de las emisiones relacionadas con la industria de la refinación, durante la temporada de invierno, principalmente.

Tabla 14. Resultado de los radios diagnósticos y las fuentes de PAHs, identificadas en el estudio.

Proporción	Temporadas			Fuente				
	Ver	Inv	Prim	A	B	C	D	E
Flt/(Flt+Pir)	0.42	0.45	0.45	0.46	0.40			
Ind/(Ind + BgP)	0.35	0.42	0.27	0.3-0.7		0.36-0.57	0.33-0.49	0.56
BaA/(BaA+Cri)	0.48	0.45	0.49	0.3-0.6		0.2-0.9		
BaP/(BaP+Cri)	0.48	0.45	0.49	0.50			0.26-0.72	
BaP/BgP	0.18	0.70	0.28				0.6-1.7	
Ind/BgP	0.53	0.72	0.38				0.48-0.94	

A: Diesel; B: Gasolina/tráfico vehicular; C: Hornos industriales; D: Refinerías;

E: Quema de coque/carbón.

3.6 Riesgo relativo por exposición a PAHs

De todos los PAHs, el benzo (a) pireno es el único clasificado como cancerígeno para el humano, por lo que es considerado el indicador de riesgo carcinógeno de los PAHs. Las concentraciones diarias de BaP, estuvieron en el rango de los 0.02 a los 0.33 ng/m³ (Figura 10), con una concentración promedio de 0.10 ng/m³, lo que representa un riesgo relativo de cáncer por exposición a BaP de 1/100,000 habitantes.

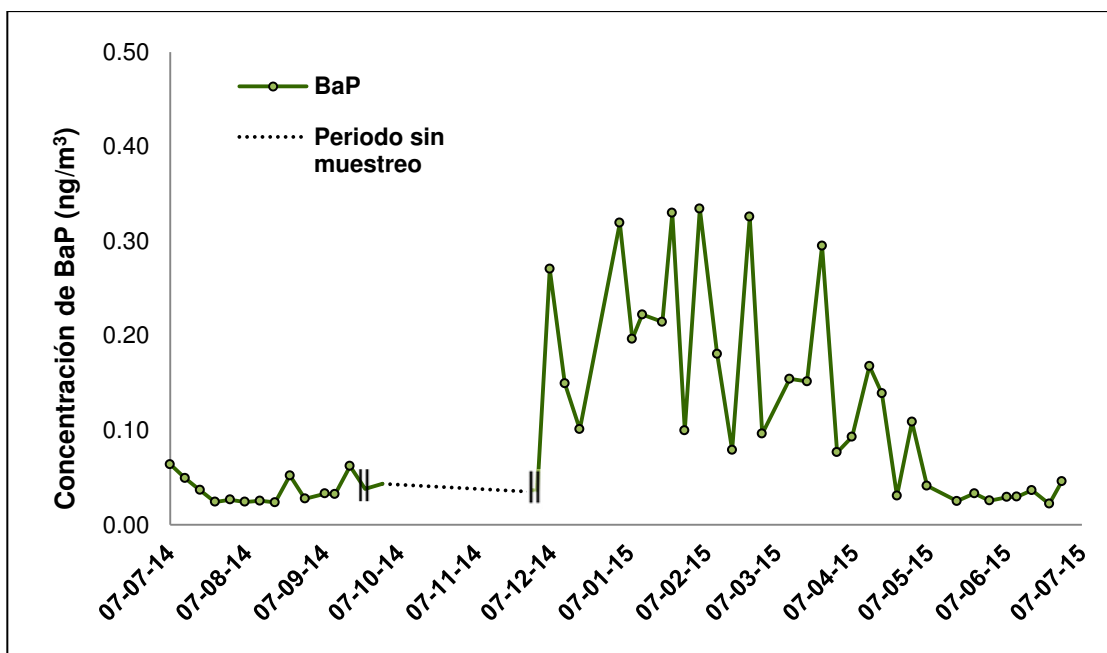


Figura 10. Concentración diaria de BaP durante el periodo de muestreo.

Para estimar el riesgo que representa la exposición a mezclas complejas de PAHs y estimar su potencia carcinogénica, se utilizaron equivalentes de Benzo (a) pireno (BaP_{eq}), el promedio de BaP_{eq} , para la temporada de verano fue de 0.9 ng/m^3 , en invierno de 0.33 ng/m^3 y en primavera de 0.12 ng/m^3 (Tabla 15), con un promedio anual de 0.19 ng/m^3 , lo que representa un riesgo relativo de cáncer por exposición a PAHs de 2/100,000 habitantes.

Tabla 15. Concentración de equivalente de BaP (BaP_{eq}), por temporada.

PAHs	TEF ^a	Verano	Invierno	Primavera
Na	0.001	0.000	0.000	0.000
Fe	0.001	0.000	0.000	0.000
Flt	0.001	0.000	0.000	0.000
Pir	0.001	0.000	0.000	0.000
BaA	0.1	0.003	0.014	0.005
Cri	0.01	0.000	0.002	0.000
BbF	0.1	0.005	0.021	0.008
BkF	0.1	0.003	0.017	0.005
BaP	1	0.038	0.191	0.059
DBA	1	0.027	0.060	0.030
BgP	0.01	0.002	0.003	0.002
Ind	0.1	0.011	0.020	0.008
ΣBaP_{eq}		0.09	0.33	0.12

Durante el invierno tanto la concentración de BaP como de BaP_{eq} fueron casi tres veces superiores a las observadas en primavera y verano (Figura 11), lo que sugiere que la exposición a PAHs, especialmente durante la temporada de invierno plantea un mayor riesgo relativo de cáncer, en la población infantil del área de estudio.

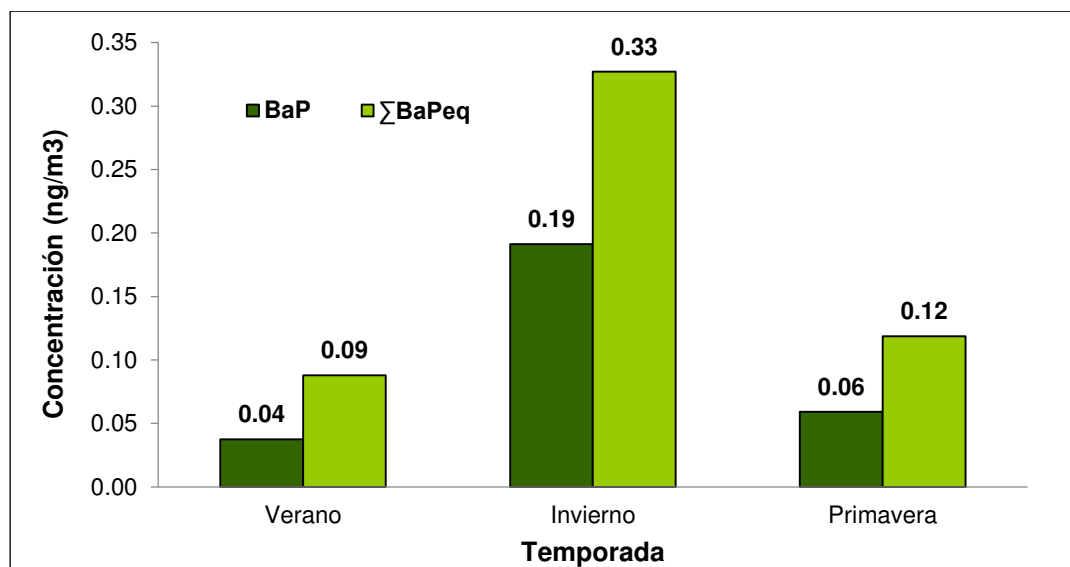


Figura 11. Concentración temporal de BaP y BaP_{eq}.

3.7 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP

Para la cuantificación de 1-OHP urinario, se llevó a cabo la validación del método analítico. Todos los parámetros considerados durante la validación del método, cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de acuerdo al método NOM-177-SSA1-2013 (Apéndice 8-B). Los resultados de los parámetros evaluados se muestran en la tabla 16. El intervalo de calibración, para la validación del método estuvo entre los 0.266-13.32 ng/mL.

Tabla 16. Resultados de la validación del método para la determinación de 1-OHP urinario.

Parámetro	Criterio	Resultado	Evaluación
Linealidad	Coef. Correl ≥ 0.990	0.998	Pasa
	Error $\leq 15\%$ y 20% LIC	10%	
Repetibilidad	Precisión: CV% $<15\%$ y $<20\%$ LIC	5.5%	Pasa
	Exactitud: % E $<15\%$ y $<20\%$ LIC	1.3%	
Reproducibilidad	Precisión: CV% $<15\%$ y $<20\%$ LIC	4.4%	Pasa
	Exactitud: % E $<15\%$ y $<20\%$ LIC	5.8%	
Límite cuantificación	CV% $<20\%$ LIC	3.0 %	Pasa
Límite de detección	LD $<$ LIC	0.18 ng/mL	Pasa

3.8 Características sociodemográficas de la población estudio

La población estudio estuvo conformada por 90 niños (41 % niñas y 59% niños), de entre 5-12 años de edad, residentes del municipio de Cadereyta Jiménez. La edad promedio fue de 8.5 años, el grupo de edad con mayor número de participantes fue el de 8-10 años (Figura 12).

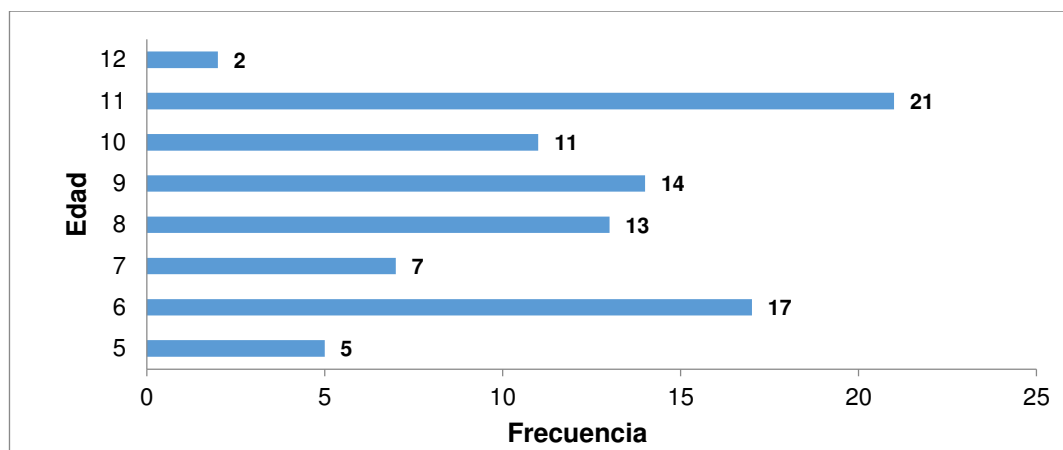


Figura 12. Distribución de los participantes por edad.

Respecto a la participación por escuela y grado escolar, la escuela José O. Martínez (JOM) con horario extendido fue la que tuvo mayor número de participantes; de la escuela Juan E. Rendón Ríos (RRM), el horario matutino presentó mayor porcentaje de participación en el estudio, que la del turno vespertino (RRV) (Figura 13a). En relación al grado escolar, los niños de sexto grado, fueron los de mayor participación (Figura 13b).

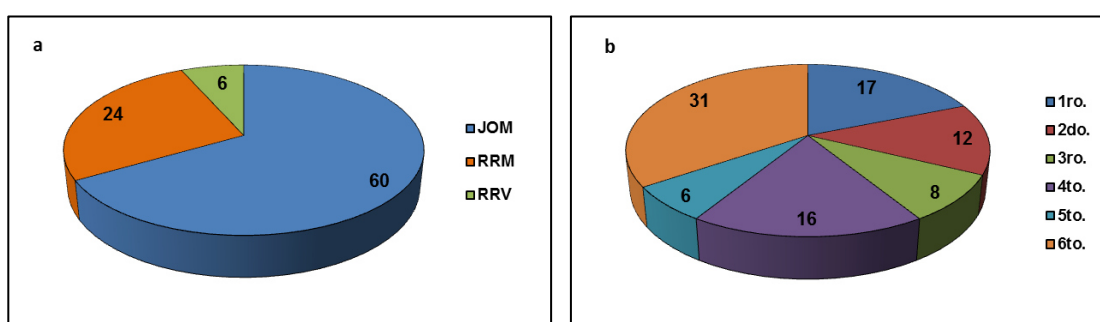


Figura 13. Porcentaje de participación por escuela (a) y grado escolar (b).

Características de exposición a PAHs

La exposición a los PAHs, se evaluó mediante la excreción de 1 –OHP durante dos temporadas de muestreo, una en verano, durante la última semana del mes de agosto de 2014 y una en invierno, durante la última semana de enero de 2015. En el estudio también se evaluó la exposición a otras fuentes potenciales de PAHs, como son: exposición a humo de tabaco de segunda mano, exposición a quema de basura, leña y carbón, así mismo se evaluó la frecuencia de consumo de alimentos asados (carne asada), así como la exposición indirectamente a PAHs contenidos en otras matrices como el suelo, mediante las horas reportadas de juego en el exterior del hogar.

Con respecto a la exposición a humo de segunda mano, el 29% de los niños que participaron en el estudio estuvo expuesto a humo de tabaco de segunda mano, es decir son niños que co-habitaban con algún fumador en el hogar. Con respecto a la exposición por quema de materia orgánica, el 32% de los niños de la población reportó exposición a esta fuente. Respecto al consumo de alimentos asados, el 13% reportó un consumo de alimentos asados de al menos 1 vez por semana, el 42 % reportó un consumo de alimentos asados cada 15 días, el 45% reportó un consumo de 1 vez al mes. Con respecto a las horas de juego en el exterior del hogar, el 51% reportó jugar entre 1-2 horas diarias y el 49% reportó un promedio de 3 horas o más.

3.9 Cuantificación de 1-OHP urinario en población infantil

Los niveles de excreción de 1-OHP durante el periodo de verano se encontraron en el rango de los 0.02 – 0.77 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, con una concentración promedio de 0.15 ± 0.15 $\mu\text{mol/mol}$ de creatinina. Durante el invierno la concentración promedio fue de 0.13 ± 0.15 $\mu\text{mol/mol}$ de creatinina, con un rango entre los 0.03-0.84 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (Figura 14). Los resultados no mostraron diferencias significativas en los niveles promedio de 1-OHP por temporada.

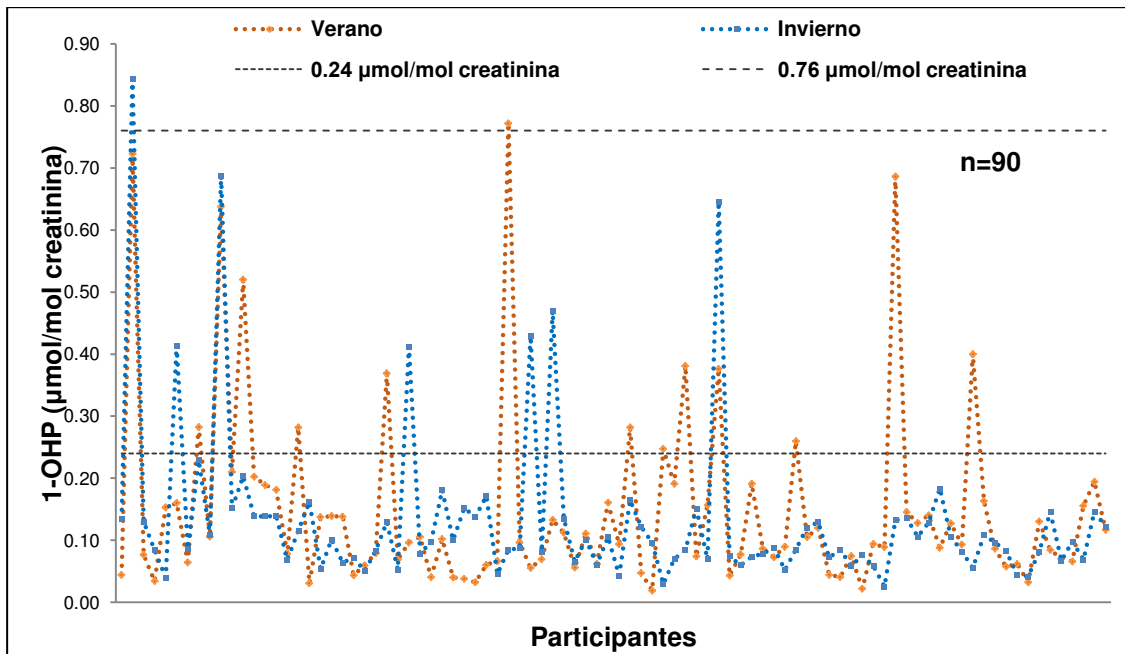


Figura 14. Niveles de concentración de 1-OHP urinario por participante, por temporada.

3.10 Concentración de 1-OHP, en función de la exposición

Los resultados del análisis bivariado, donde se evaluó si existían diferencias en los niveles de 1-OHP en función del periodo de muestreo, las características sociodemográficas y de exposición, se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Concentración de 1-OHP, en función de variables sociodemográficas y de exposición.

		Verano		Invierno	
	n (%)	1-OHP	p-valor	1-OHP	p-valor
Periodo de muestreo ^a					
Verano	90 (100%)	0.15 ± 0.15	0.475		
Invierno	90 (100%)	0.13 ± 0.15			
Género					
Mujer	37 (41%)	0.17 ± 0.20	0.938	0.14 ± 0.17	0.879
Hombre	53 (59%)	0.14 ± 0.11		0.13 ± 0.11	
Edad (años) ^b					
5-7	29 (32%)	0.19 ± 0.17	0.028*	0.18 ± 0.19	0.006*
8-10	38 (42%)	0.12 ± 0.15		0.12 ± 0.09	
11-12	23 (26%)	0.14 ± 0.12		0.10 ± 0.12	
Exposición a tabaco ^a					
Sí	26 (29%)	0.17 ± 0.17	0.137	0.16 ± 0.20	0.929
No	64 (71%)	0.14 ± 0.15		0.12 ± 0.11	
Quema de basura, leña o carbón ^a					
Si	28 (32%)	0.16 ± 0.17	0.774	0.10 ± 0.05	0.548
No	62 (68%)	0.15 ± 0.15		0.15 ± 0.16	
Comida asada (frecuencia de consumo) ^b					
1/semana	12 (13%)	0.20 ± 0.20	0.485	0.14 ± 0.23	0.058
2/mes	38 (42%)	0.16 ± 0.17		0.12 ± 0.08	
1/mes	40 (45%)	0.13 ± 0.12		0.15 ± 0.15	

Horas de juego en el exterior (diarias) ^a

1-2 horas	46 (51%)	0.12 ± 0.10	0.302	0.13 ± 0.09	0.173
3 o más horas	44 (49%)	0.18 ± 0.19		0.14 ± 0.17	

^a Prueba U de Mann Whitney; ^b Prueba de Kruskal-Wallis

* Diferencias significativas (p<0.05), prueba de Kruskal-Wallis

El análisis no mostró diferencias significativas entre los dos periodos de muestreo. Con respecto al género, las niñas tuvieron niveles ligeramente más altos que los niños, sin embargo, el análisis no mostró diferencias significativas en los valores de 1-OHP. La edad fue la única variable para la que se observaron diferencias significativas en la excreción de 1-OHP (p<0.05). El grupo de edad de 5 a 7 años, presentó concentraciones más altas, con respecto a los niños de ocho años o más, durante los dos periodos de muestreo.

Respecto a la exposición a humo de tabaco, el 29% de los niños que participaron en el estudio estuvo expuesto a humo de tabaco de segunda mano, a pesar de que se observó una concentración promedio más alta en los niños expuestos que en los no expuestos, el análisis bivariado no mostró diferencias significativas en los niveles de 1-OHP. Respecto a la exposición a quema de basura, leña y carbón, parece no tener efecto sobre los niveles de 1-OHP cuantificados, ya que no se observaron diferencias significativas, ni niveles más altos de 1-OHP en niños expuestos con respecto a los no expuestos.

También se investigó la frecuencia de consumo de alimentos asados, al respecto, durante la temporada de verano se observó un ligero incremento en

los niveles 1-OHP en los niños que consumen alimentos asados con mayor frecuencia, sin embargo, no se observó diferencias estadísticamente significativas. De igual modo con respecto a las horas de juego en el exterior del hogar, para los niños que se reportaron más horas, se obtuvieron niveles ligeramente más altos, pero no se observó diferencias significativas.

3.10.1 Comparación con los valores de referencia

Considerando los valores de referencia propuestos por Jongeneelen, durante la temporada de verano, el 16% de la población presentó niveles superiores al valor de referencia considerado para personal no expuesto y no fumador. Durante el invierno únicamente el 8 % de la población mostró niveles superiores a la guía de referencia, sin embargo, los niveles reportados durante el invierno fueron ligeramente superiores que los reportados en verano (Tabla 18).

Tabla 18. Porcentaje de participantes en cada nivel de la guía de referencia, propuesta por Jongeneelen, 2001.

Periodo de muestreo	<0.24 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina	0.24–0.75 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina	0.76-1.39 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina
Verano	0.10 \pm 0.05	0.42 \pm 0.17	0.77 \pm 0.0
n (%)	76 (84%)	13 (15%)	1 (1%)
Invierno	0.10 \pm 0.04	0.51 \pm 0.12	0.84 \pm 0.0
n (%)	83 (92%)	6 (7%)	1 (1%)

3.10.2 Comparación con los niveles de 1-OHP reportados en población infantil

Es importante considerar que los valores de referencia propuestos por Jongeneelen,³⁸ provienen de poblaciones adultas, por lo también se realizó una comparación en términos de los niveles de 1-OHP reportados en la literatura a nivel internacional en población infantil, bajo diferentes escenarios de exposición a PAHs (Tabla 19).

Tabla 19. Comparación de resultados de excreción de 1-OHP urinario (Media±DE) con lo reportado en otros estudios.

País	Edad	1-OHP	Características	Referencia
México	5-12	0.15 (± 0.15)	Verano	Este estudio
		0.13 (± 0.15)	Invierno	
Estados Unidos	6-11	0.06 (0.05-0.07) ^a	Población general	(CDC 2009)
Estados Unidos	12-19	0.05 (0.04-0.05) ^a	Población general	
España	4	0.06 (± 0.04)	Urbano	(Freire et al. 2009)
Alemania	3-14	0.18-0.21	Población general	(Wilhelm et al. 2008)
Tailandia	9-13	0.20 (± 0.02)	Urbano	(Ruchirawat et al. 2007)
Dinamarca	3-13	0.12 (0.01 - 0.63) ^b	Urbano	(Hansen et al. 2006)
Arabia Saudita	10-12	0.17 (0.16) ^c	Refinería	(Alghamdi et al. 2015)
		0.14 (0.12) ^c	Carretera	
México	3-13	0.08 (± 0.2)	Urbano	(Martínez-Salinas et al. 2010)
		2.2 - 4.4	Rural	
México	6-10	0.38 (0.30 - 0.48) ^c	Complejo petroquímico	(Sánchez-Guerra et al. 2012)

^a Media (95% IC); ^b Media (Rango); ^c Media (RIQ).

CAPÍTULO IV

IV. DISCUSIÓN

Durante el periodo de muestreo, se obtuvieron un total de 49 muestras. La concentración promedio de partículas fue superior a los $12 \mu\text{g}/\text{m}^3$ que establece la normatividad nacional (NOM-025-SSA1-2014) y a los $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ que recomienda la OMS, como concentración máxima anual promedio.^{7,71} Respecto a la concentración promedio diaria, la OMS establece una concentración de $0.25 \mu\text{g}/\text{m}^3$, este valor se rebasó en cinco ocasiones durante el periodo de muestreo; mientras que el valor de $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$, que establece la normatividad mexicana, se superó sólo en una ocasión.

Resultados semejantes se han reportado en otras áreas urbanas con influencia industrial de países como Francia y Brasil, donde las concentraciones de partículas fracción fina se han reportado entre los 11 y $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$.^{52,72} Sin embargo, fueron inferiores a lo reportado para otros sitios de importante densidad industrial y vehicular, ubicados dentro del Área Metropolitana de Monterrey, donde se han descritos concentraciones mayores a los $27 \mu\text{g}/\text{m}^3$.⁶⁴

En el AMM históricamente las concentraciones de $\text{PM}_{2.5}$, han permanecido con valores superiores a lo establecido en la normatividad vigente NOM-025-SSA1-2014.⁷ Además han presentado un comportamiento estacional caracterizado por altos niveles en invierno y bajos en verano, otros estudios tanto a nivel

regional como internacional han reportado el mismo comportamiento.^{13,28,53,64,73}

Nuestro estudio no fue la excepción, las partículas mostraron niveles entre un 60 y 70% más altos durante el invierno, con respecto a las temporadas de verano y primavera.

Este comportamiento se ha relacionado con procesos de inversión térmica, que durante el invierno reduce la dispersión vertical de los contaminantes atmosféricos, lo que provoca que permanezcan más tiempo en las capas cercanas al suelo, se acumulen y provoquen altos niveles de contaminación.^{55,74} También se ha descrito que las altas concentraciones podrían estar relacionadas con un aumento en el tráfico vehicular asociado a las festividades de año nuevo y con el aumento en el uso de calefacción doméstica.⁶⁴

Si bien los altos niveles de $PM_{2.5}$ son indicativos de la mala calidad del aire y el riesgo asociado que esto representa en la salud de la población, se ha descrito que los principales responsables del potencial carcinógeno y mutágeno de las partículas, son los PAHs.¹³⁻¹⁶ Por lo que el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la concentración de $PM_{2.5}$, en un sitio de importancia industrial dentro del AMM, así como su contenido de PAHs.

Países como Francia, Suecia, Reino Unido y la Unión Europea, han establecido valores de referencia con respecto a la concentración atmosférica de PAHs, en el caso de México no existe una normatividad que especifique los niveles máximos de PAHs en el aire ambiente, tampoco existe una normatividad que especifique un método válido para el análisis de estas sustancias asociadas a

partículas ambientales. Sin embargo, a nivel internacional se han propuesto diferentes métodos para la determinación de PAHs, mediante cromatografía líquida de alta resolución.^{75,76} Esta técnica habitualmente es la más utilizada en la separación y determinación de PAHs en muestras ambientales, una de las ventajas del uso de la HPLC, es que su fase estacionaria no polar permite la separación selectiva de los isómeros de PAHs en las muestras, y por el hecho de trabajar prácticamente a temperatura ambiente, se evita la alteración de compuestos termolábiles.⁷⁵

En nuestro laboratorio el método utilizado para la determinación de PAHs, fue previamente estandarizado y validado por González-Santiago,⁶⁵ para fines de este trabajo se llevó a cabo una revalidación completa del método. Se considera que la validación de un método analítico tiene como objetivo, establecer y proveer evidencia objetiva, de que las características de desempeño de un método satisfacen los requisitos necesarios para su aplicación analítica. En el caso de métodos no normalizados, es decir, aquellos obtenidos de publicaciones científicas, o diseñados y desarrollados por el laboratorio, así como aquellos métodos que se basan en un método normalizado, pero al que se le han realizado modificaciones, se considera necesaria la validación, a fin de demostrar el conocimiento, experiencia y capacitación del personal involucrado en la aplicación del método.⁷⁷⁻⁷⁹

En la revalidación del método para la determinación de PAHs se logró mejorar la sensibilidad del proceso analítico, adicionalmente, se lograron establecer límites de cuantificación más bajos con respecto al estudio anterior, y se

aumentó el porcentaje de recuperación de un 91% registrado en el estudio anterior a un 93%.⁸⁰ Los resultados de la revalidación cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de acuerdo al método 8000-B de la USEPA, con lo que se comprobó que el método cumple con las características de desempeño necesarias para su aplicación analítica.

Con respecto al método para la determinación de 1-OHP, durante la validación se logró una reducción de casi la mitad del tiempo de análisis, con respecto al tiempo de análisis reportado en un estudio anterior realizado en el departamento, en adultos del AMM.⁸⁰ Esta reducción se debió a un cambio en la columna Supelcosil PAHs de 4.6 x 250 mm x 5 micrómetros de diámetro interno, la cual se reemplazó por una columna Zorbax C18 de 3.0 x 150 mm x 3.5 micrómetros de diámetro interno, por lo que fue necesaria también una reducción en el flujo (de 1.5 mL/min a 0.7 mL/min) y el volumen de inyección (de 20µL a 15µL). Una de las principales ventajas producto de esta adecuación al método, fue una disminución en el uso de solvente, durante el análisis de las muestras. Con respecto a los parámetros evaluados durante la validación, todos ellos cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013, con lo que se comprobó que el método cumplió con las características de desempeño necesarias para su aplicación.

Con el método validado se lograron cuantificar 12 de los 16 PAHs considerados como prioritarios por la EPA. Los niveles encontrados fueron semejantes a los reportados en 2012 por Barrado (2012) para un área urbana de España, y a lo

reportado en 2011 por Cazier, en un sitio de Francia caracterizado por la presencia de industria pesada, incluyendo una refinería de petróleo.^{52,74}

Respecto al comportamiento estacional de los PAHs, también se observó una concentración significativamente más alta durante la temporada invernal; con niveles hasta 2.5 veces más altos con respecto a las temporadas de verano y primavera. Estos resultados concuerdan con lo reportado en países como Italia, Francia y Turquía.^{53,81,82}

Se considera que el comportamiento estacional de los PAHs es fuertemente influenciado por las condiciones meteorológicas, las cuales condicionan sus mecanismos de químicos de degradación y las condiciones de dispersión, transporte y deposición de estos contaminantes, así como de las PM_{2.5}.^{68,72,83,84}

Uno de los parámetros meteorológicos más importante es la temperatura, se ha documentado que durante el invierno, las bajas temperaturas favorecen el proceso de adsorción de los PAHs a las partículas, por lo que resulta razonable considerar que si las PM_{2.5} aumentaron durante el invierno, también lo hayan hecho los PAHs asociados.^{14,19,55,83}

La radiación solar y el viento también juegan un papel importante en la remoción atmosférica de los PAHs. La radiación solar es un factor que se relaciona fuertemente con los procesos de fotodegradación de los PAHs, incluso es considerado uno de los procesos químicos, más significativos en su eliminación de la atmósfera, por lo que podemos suponer que los altos niveles de radiación solar en el verano provocaron una disminución importante en la

concentración de PAHs, caso contrario a lo que se presentó durante el invierno, cuando los niveles de radiación fueron inferiores.^{13,15}

Por su parte, durante el invierno una disminución en la velocidad del viento, considerado un factor determinante en la dispersión y movilización de los contaminantes atmosféricos; asociado a condiciones de alta presión pudo haber limitado la movilización los PAHs, mientras que durante el verano, una mayor velocidad del viento y una presión atmosférica menor, pudo haber contribuido a niveles atmosféricos de PAHs y PM_{2.5}, más bajos.

Respeto a la caracterización de los PAHs contenidos en las muestras de PM_{2.5}, aproximadamente el 78% de la concentración de PAHs fueron de alto peso molecular. Siendo el benzo (ghi) perileno, indeno (123cd) pireno y el benzo (b) flouranteno, los que presentaron una mayor contribución, durante todo el periodo de muestreo. Típicamente las áreas urbano-industriales se han caracterizado por una importante presencia de PAHs de alto peso molecular.⁸⁵ Algunos estudios han identificado al BbF, como marcador de emisiones generadas por motores de diésel, mientras que el Ind y BgP, se han identificado en la quema de carbón y queroseno, el BgP también se ha asociado al tráfico vehicular; sin embargo la presencia de estos tres compuestos ha sido identificada en sitios cercanos a refinerías de petróleo.

En países como Francia, la concentración de PAHs asociados a la fracción PM_{2.5}, mostró una alta concentración en los niveles de BgP, Ind y BbF, así como un aumento importante de la concentración de benzo (a) pireno durante la temporada invernal.⁸¹ En otros países se han reportado resultados

semejantes, pero en la fracción PM_{10} . En Argentina se evaluó un sitio con presencia de industria petroquímica y de refinación de petróleo, y también se observaron altas concentraciones de estos tres PAHs.⁵⁵ Mientras que en Estados Unidos, se evaluaron las concentraciones de PAHs emitidos por las unidades de destilación dentro de una refinería de petróleo, y en un sitio cercano a ésta, y los resultados fueron muy semejantes, con la excepción de que para la unidad de destilación fue el BaP, el que presentó la concentración más alta.⁸⁶ Otros estudios realizados en Italia y España, únicamente muestran una relativa coincidencia con nuestro estudio, principalmente en las emisiones de BbF.^{53,87}

Caracterizar la composición de los PAHs liberados por las refinerías y determinar su contribución sobre el contenido de PAHs totales en sitios cercanos, es complicado considerando que estas industrias generalmente se ubican en sitios donde se desarrollan otras actividades industriales. Además de que la variabilidad tanto en la cantidad como en la composición de las emisiones liberadas por las refinerías de petróleo, depende en gran medida del tipo y calidad del petróleo crudo, así como de los productos y procesos utilizados en la obtención de estos productos.⁵⁶ De aquí la importancia cuantificar y caracterización de manera puntual los PAHs en sitios de importancia urbano-industrial, como es el caso del AMM.

Con el fin de identificar de manera más precisa el origen de los PAHs, algunos autores han propuesto el uso de radios diagnósticos. Este método se basa en identificar la concentración de un grupo específico de PAHs, y establecer una

relación entre ellos, considerando que estos se diluyen en un grado similar, por lo que las proporciones se mantienen constantes en la ruta de la fuente a los receptores.⁶⁸

Relaciones como la del Flt/(Flt+Pyr) nos permitió diferenciar fuentes de origen petrogénico y pirogénico, cuando las proporciones son inferiores 0.4 suelen indicar un origen petrogénico, mientras que valores mayores a 0.4 suelen indicar quema de combustibles fósiles.^{81,88} En nuestra área de estudio los valores encontrados fueron superiores a 0.4 para todas la temporadas, al ser una zona urbana industrial, parece factible encontrar fuentes de combustión, asociadas tanto a automóviles de gasolina, como vehículos de diésel. Otras relaciones como la de Ind/(Ind + BgP) también se han utilizado para identificar emisiones asociadas a la quema de diésel y gasolina, así como emisiones asociadas a la industria. En nuestro estudio la media de esta relación fue de 0.36, estos resultados coinciden con reportado por Manoli et al. 2004 y Wang et al. 2008, para indicar emisiones por hornos industriales.^{88,89} También coinciden con el rango considerado por Ravindra, para áreas con presencia de refinerías.^{20,83}

Resultados semejantes aportan los valores obtenidos de las proporciones de BaA/(BaA+Chry) y BaP/(BaP+Chry), que indican fuentes relacionadas con la combustión de diésel y emisiones industriales.^{20,83,89,90}

El peso molecular de los PAHs, es un características que no sólo se ha relacionado con su capacidad de distribución en el ambiente, sino también con el riesgo que representan para la salud.^{18,91} Se considera que conforme

aumenta el peso molecular de los PAHs, también aumenta su toxicidad y riesgo de carcinogenicidad.²⁰

De todos PAHs, el benzo (a) pireno es el único clasificado como cancerígeno para el humano, por lo que es considerado el indicador de riesgo carcinógeno de los PAHs.²⁹ En México no existe legislación vigente que regule los niveles de BaP en el aire ambiente, sin embargo en países como Reino Unido se ha establecido como límite anual 0.25 ng/m^3 de BaP.³¹ Por su parte la Unión Europea, desde 2004 estableció una concentración límite anual de $1,0 \text{ ng/m}^3$ en PM_{10} .³² En nuestro estudio las concentraciones diarias de BaP, presentaron una concentración promedio de 0.10 ng/m^3 , es decir, inferior a lo establecido en Reino Unido como valor límite, y a lo descrito para diferentes ciudades de China y Europa.^{84,88}

Si bien la cuantificación del BaP ha sido propuesta para evaluar el riesgo relativo a la salud asociado a la exposición a PAHs, en el medio ambiente estas sustancias, generalmente se encuentran como mezclas complejas y no como compuestos simples, considerando que estas mezclas presentan variaciones en su composición y proporción, según el origen de la emisión; la EPA ha propuesto el cálculo del Factores de Equivalencia de Toxicidad (FET), como metodología para estimar el riesgo de estas sustancias, en relación al BaP (BaP_{eq}).³⁰

El promedio de BaP_{eq} fue de 0.19 ng/m^3 , sin embargo durante el invierno el promedio de BaP_{eq} fue de 0.33 ng/m^3 , valor superior a lo establecido en Reino Unido como valor límite, lo que sugiere que los niveles de exposición a PAHs,

especialmente durante la temporada de invierno plantea un mayor riesgo de cáncer, en la población del área de estudio.

En relación a la exposición al corto plazo, uno de los biomarcadores más utilizados es el 1-hidroxipireno. En México, la información referente a la evaluación de la exposición infantil a los PAHs, es limitada, la mayor parte de la información proviene de estudios realizados en la región centro y sur del País. En el caso del AMM, el único antecedente que se tiene proviene de un estudio realizado en adultos, residentes y trabajadores de un área caracterizada por alto tráfico vehicular y presencia industrial; sin embargo en lo referente a población infantil la información es prácticamente nula.⁸⁰

La población infantil, es un grupo de población recomendada por la OMS para evaluar la exposición a factores medio ambientales, debido a que presentan una fuerte relación con el lugar de residencia, así como una limitada exposición a factores de confusión, relacionados con el estilo de vida, como es el consumo de tabaco.^{1,92}

En el estudio, se evaluó la excreción urinaria de 1-OHP, de 90 niños, durante dos temporadas del año. Los niveles promedio de excreción de 1-OHP, fueron superiores a los reportados por Martínez-Salinas, en niños residentes de una zona urbana con tráfico vehicular moderado, en México, pero inferiores a lo reportado en sitios rurales, en los que la principal fuente de emisión es el uso de leña en el hogar.⁹³

También fueron inferiores a los reportados en 2012, por Sánchez-Guerra, para una población residente de un sitio con industria petroquímica.⁹⁴ Los niveles de 1-OHP reportados en ese estudio, fueron tres veces más altos que los registrados en nuestro estudio, sin embargo no existen datos disponibles de la concentración atmosférica de PAHs, por lo que únicamente podemos suponer que la disparidad entre los resultados, se debe a que esa área se reconoce por ser uno de los complejos industriales de mayor importancia petrolífera del país, donde las actividades desarrolladas incluyen tanto la refinación de petróleo como actividades petroquímicas, por lo que es viable considerar que los niveles de PAHs superan de manera importante los registrados en nuestro estudio.

En Arabia Saudita, también se evaluó la concentración de 1-OHP en niños residentes de un área con industria de refinación de petróleo, los valores encontrados fueron muy cercanos a nuestros hallazgos ($0.17 \mu\text{mol/mol}$ creatinina). Respecto a la concentración de PAHs asociado a partículas, el estudio únicamente incluyó las concentraciones de pireno y fenantreno (0.12 y 0.14 ng/m^3), las cuales fueron ligeramente más altas que las reportadas en nuestro estudio para la temporada de verano, pero semejantes a las reportadas durante la temporada de invierno.³⁹

Algunos otros países han evaluado la excreción de 1-OHP en población infantil, en sitios urbanos, algunos muestran resultados muy semejantes a nuestros hallazgos. Dinamarca registró valores de $0.12 \mu\text{mol/mol}$ creatinina en niños residentes de una zona urbana, valores superiores a lo registrado para áreas rurales.⁷⁰ Alemania, también ha establecido como valor de referencia para

niños de 3-14 años de edad, hijos de no fumadores, valores de 0.18 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina.³⁷ Sin embargo, países como Estados Unidos y España, han reportado valores significativamente inferiores a lo reportado en nuestro estudio.^{40,95}

Considerando que la concentración de PAHs totales cuantificados, fueron significativamente superiores durante la temporada de invierno, se realizó un análisis bivariado de la concentración de 1-OHP, para determinar si existen diferencias significativas, asociadas a los niveles de PAHs cuantificados en cada periodo, sin embargo el análisis no mostró diferencias significativas entre los dos periodos de muestreo. Es posible que los niveles de PAHs asociados a las $\text{PM}_{2.5}$, no mostraron diferencias lo suficientemente grandes, aunque si significativas, entre ellas, como para considerar claramente su contribución sobre los niveles de 1-OHP.⁹⁶

En este sentido, Alghamdi (2015), reportó que un aumento de una unidad en la concentración de pireno ambiental, se asocia con un aumento del 3.5% en la concentración de 1-OHP urinaria.³⁹ En nuestro estudio las diferencias entre la concentración más alta de pireno y la más baja, apenas alcanzó una décima.

Algunos estudios indican, que si bien la exposición por inhalación contribuye al aumento en la concentración de 1-OHP, otras variables pueden estar afectando de manera significativa las concentraciones de 1-OHP excretado.³⁹

Considerando lo anterior, en el estudio se decidió evaluar la influencia de algunas variables como la exposición a humo de tabaco, la dieta, el género, la edad, entre otras.

En el análisis, la edad parece ser el único factor que afectó los niveles de 1-OHP excretados, aun cuando diversas investigaciones han sugerido que la exposición a humo de tabaco puede provocar niveles de excreción de 1-OHP, hasta 30% más altos en personas expuestas.³⁷ Respecto a la dieta considerada la fuente principal de exposición a los PAHs en el humano, también se han reportado aumentos de hasta un 24% en los niveles de excreción de 1-OHP, asociados al aumento en el consumo de alimentos asados a las brasas.^{39,97,98} Respecto al factores como el género, los resultados no son del todo concluyentes, algunos estudios han reportado, como en nuestro estudio niveles más altos en niñas,^{94,99} sin embargo algunos otros han reportado niveles más altos en niños.^{70,92,100} Se ha sugerido que estas diferencias pueden estar relacionadas con hábitos de juego y de limpieza personal, como el lavado de manos; además en adolescentes, se considera que una mayor excreción de creatinina, debida a una mayor masa muscular, puede explicar valores pequeños 1-OHP en hombres, cuando los resultados se ajustan con la creatinina.^{92,101}

Con respecto a la edad, se observó una concentración significativamente más alta en el grupo de edad de 5 a 7 años, con respecto a los niños de ochos años o más. Si bien no se ha definido hasta qué punto la edad puede ser un factor crucial en los niveles de 1-OHP excretado, se reconoce que los niños más

pequeños suelen jugar más tiempo al aire libre, lo que puede representar una mayor exposición a los PAHs contenidos en el aire o en suelo,^{95,102} considerando que presentan una mayor tasa de inhalación por unidad de peso corporal, así como una mayor actividad de la mano a la boca.⁹¹

Otros reportes también muestran niveles superiores en los grupos de edad más pequeños; en el cuarto informe nacional sobre la exposición humana a compuestos químicos ambientales,⁴⁰ en el cual se evalúa de manera continua la exposición a compuestos químicos ambientales en población de los Estados Unidos, el grupo de edad de 6-11 años presentó niveles ligeramente más altos que el grupo de 12-19 años. Por su parte Heudorf y Angerer (2001), encontraron concentraciones 30% más altas en niños menores 6 años, en comparación con el grupo de edad de 6-12 años, en una población alemana.¹⁰³

Lo anterior también nos permite considerar, la posibilidad de que otras vías de exposición podrían estar contribuyendo en los niveles de 1-OHP detectados en los niños de la población estudio. Si bien la cuantificación de 1-OHP permite estimar la exposición a PAHs, no aporta información de la contribución de las diferentes vías de exposición, como son el contenido de PAHs en otras matrices, incluyendo el aire al interior del hogar, el suelo y polvos del interior de los hogares.

CAPÍTULO V

V. CONCLUSIONES

Este trabajo representa el primer estudio realizado en el norte de México en el que se evalúan los niveles de 1-OHP en población infantil, de manera conjunta con los niveles de PAHs asociados a partículas ambientales (PM_{2.5}).

El nivel promedio de PM_{2.5}, para el área de estudio, fue superior a lo establecido por la normatividad nacional e internacional. Los niveles tanto de PM_{2.5} como de PAHs, fueron significativamente mayores durante la temporada de invierno, este patrón de comportamiento coincide con lo reportado a nivel local e internacional. Entre los factores meteorológicos más relacionados con este comportamiento estuvieron, la temperatura, la radiación solar y la velocidad del viento.

De los PAHs asociados el benzo (ghi) perileno, indeno (123cd) pireno y benzo (b) flouranteno, presentaron la contribución más alta durante todo el periodo de muestreo. Con base en el análisis de radios diagnósticos, podemos considerar que los PAHs presentes en el área de estudio, son procedentes de fuentes mixtas, asociada al tráfico vehicular de gasolina y diésel, así como una importante influencia industrial, asociada al tipo de industria presente en este sitio.

De los 12 HAP cuantificados, siete son potencialmente cancerígenos, y uno (benzo [a] pireno) es carcinógeno para los seres humanos, y se utiliza como un indicador del riesgo relativo de cáncer de la exposición a los HAP. En este estudio, la concentración media anual de benzo (a) pireno, sugirió un exceso de riesgo de cáncer de 1 / 100,000 habitantes.

Con respecto a la concentración de 1-OHP, el 13% de la población presentó niveles de 1-OHP superiores al valor de referencia considerado para personal no expuesto y no fumador. A pesar de las diferencias temporales que mostraron los niveles de PAHs, registrados en el estudio, los niveles promedio de 1-OHP no mostraron diferencias significativas con respecto al periodo de muestreo. No fue posible establecer una correlación entre la excreción de 1-OHP y la concentración de PAHs. Por esa razón, se sugiere la realización de estudios, con una frecuencia de muestreo superior en la toma de muestras de orina en la población estudiada, ya que este estudio incluyó sólo dos muestras de orina por niño (una en verano y otra en invierno).

Debido a la presencia ubicua de los PAHs y su potencial tóxico, el monitoreo continuo y la evaluación de la exposición a estas sustancias es de gran importancia en el ámbito de la salud pública, en especial en poblaciones vulnerables, como es el caso de los niños. Para países como México, el desarrollo de estudios como éste, contribuye al establecimiento de valores de referencia para la población mexicana, que garanticen el bienestar de la población principalmente de áreas densamente pobladas como son el AMM.

Perspectivas

- Incluir la evaluación del contenido de PAHs en otras matrices, como suelo, aire y polvos dentro del hogar.
- Evaluar otras poblaciones, dentro del AMM con potencial exposición a PAHs, con el fin de comparar los resultados obtenidos en el presente estudio.
- Incluir en la evaluación de otros biomarcadores daño por exposición a PAHs.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Prüss-Üstün A, Corvalán C. Ambientes saludables y prevención de enfermedades. Hacia una estimación de la carga de morbilidad atribuible al medio ambiente. OMS. 2006.
- 2 WHO (World Health Organization) Burden of disease from ambient and household air pollution. Geneva, 2014.
http://www.who.int/phe/health_topics/outdoorair/databases/en/
- 3 Chen H, Goldberg MS, Villeneuve PJ. A Systematic Review of the Relation Between Long-Term Exposure to Ambient Air Pollution and Chronic Diseases. *Rev Env Heal* 2008; 23: 243–97.
- 4 INEEC. Contaminantes criterio. 2013. <http://www.inecc.gob.mx/calair-indicadores/523-calair-cont-criterio>.
- 5 USEPA. Criteria Air Pollutants. 2016. <https://www.epa.gov/criteria-air-pollutants>.
- 6 Zuk M, Tzintzun Cervantes MG, Rojas Bracho L. *Tercer almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en nueve ciudades mexicanas*. Instituto Nacional de Ecología: México, 2007.
- 7 DOF. NOM-025-SSA1-2014. Salud ambiental. Valores límite permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM10 y PM2.5 en el aire ambiente y criterios para su evaluación. Estados Unidos Mexicanos, 2014.
- 8 Kim K-H, Kabir E, Kabir S. A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environ Int* 2015; 74: 136–143.
- 9 Li Z, Porter E, Sjödin A, Needham L, Lee S, Russell A *et al*. Characterization of PM2.5-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in Atlanta-Seasonal variations at urban, suburban, and rural ambient air monitoring sites. *Atmos Environ* 2009; 43: 4187–4193.

- 10 USEPA. Particle pollution and your health. 2003.
http://www.airnow.gov/index.cfm?action=particle_health.index.
- 11 Pérez-Vidal H, Lunagómez-Rocha M, Acosta-Pérez L. Análisis de partículas suspendidas totales (PST) y partículas fracción respirable (PM10), en Cunduacán, Tabasco. *Univ y Cienc* 2010; 26: 151–162.
- 12 WHO (World Health Organization). Ambient (outdoor) air quality and health. 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/en/>.
- 13 Akyüz M, Çabuk H. Meteorological variations of PM2.5/PM10 concentrations and particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmospheric environment of Zonguldak, Turkey. *J Hazard Mater* 2009; 170: 13–21.
- 14 Donaldson K, Borm P. *Particle Toxicology*. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2006.
- 15 Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latino* 2005; 39: 27-36.
- 16 Plísková M, Vondráček J, Vojtesek B, Kozubík A, Machala M. Deregulation of cell proliferation by polycyclic aromatic hydrocarbons in human breast carcinoma MCF-7 cells reflects both genotoxic and nongenotoxic events. *Toxicol Sci* 2005; 83: 246–56.
- 17 Srogi K. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environ Chem Lett* 2007; 5: 169–195.
- 18 ATSDR. A Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. 1995. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.pdf>.
- 19 Baek SO, Goldstone ME, Kirk PWW, Lester JN, Perry R. Phase distribution and particle size dependency of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere. *Chemosphere* 1991; 22: 503–520.

- 20 Ravindra K, Sokhi R, Vangrieken R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos Environ* 2008; 42: 2895–2921.
- 21 USEPA. Toxic and priority pollutants under the Clean Water Act. 1979. <https://www.epa.gov/eg/toxic-and-priority-pollutants-under-clean-wateract>.
- 22 IARC. Monographs- Classifications. Agents Classif. by IARC, Vol. 1–114, 2010..http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php.
- 23 Boström C-E, Gerde P, Hanberg A, Jernström B, Johansson C, Kyrklund T *et al*. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect* 2002; 110 Suppl: 451–88.
- 24 Zhang Y, Dong S, Wang H, Tao S, Kiyama R. Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors. *Environ Pollut* 2016; 213: 809–824.
- 25 Liu M, Chen L, Zhou R, Wang J. Association between GSTM1 polymorphism and DNA adduct concentration in the occupational workers exposed to PAHs: A meta-analysis. *Gene* 2013; 519: 71–76.
- 26 Beland F, Poirier M. DNA Adducts and Carcinogenesis. In: *The Pathobiology of Neoplasia*. Springer US: Boston, MA, 1989, pp 57–80.
- 27 Salcido-Neyoy ME, Sánchez-Pérez Y, Osornio-Vargas AR, Gonsebatt ME, Meléndez-Zajgla J, Morales-Bárcenas R *et al*. Induction of c-Jun by air particulate matter (PM10) of Mexico city: Participation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Pollut* 2015; 203: 175–182.
- 28 Martellini T, Giannoni M, Lepri L, Katsoyiannis A, Cincinelli A. One year intensive PM 2.5 bound polycyclic aromatic hydrocarbons monitoring in the area of Tuscany, Italy. Concentrations, source understanding and implications. *Environ Pollut* 2012; 164: 252–258.
- 29 Zhang F, Xu L, Chen J, Chen X, Niu Z, Lei T *et al*. Chemical

- characteristics of PM_{2.5} during haze episodes in the urban of Fuzhou, China. *Particuology* 2013; 11: 264–272.
- 30 Vargas M, Romero G, Palencia A, Rivero E, Piñero Sofía. Equivalentes tóxicos de hidrocarburos aromáticos políciclicos en particulado atmosférico en Valencia, Venezuela. *Acta Toxicol Argent* 2013; 21: 69-77.
- 31 Coleman P, Bush T, Conolly C, Irons S, Murrells T, Vincent K *et al.* Assessment of benzo[a]pyrene atmospheric concentrations in the UK to support the establishment of a national PAH objective. 2001.
- 32 EU. The European Parliament and of the Council. Directive 2004/107/EC relating to arsenic, cadmium, mercury, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air. 2004. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex:32004L0107>.
- 33 Nisbet ICT, LaGoy PK. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons. *Regul Toxicol Pharmacol* 1992; 16: 290-300.
- 34 Tsai PJ, Shih TS, Chen HL, Lee WJ, Lai CH, Liou SH. Assessing and predicting the exposures of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their carcinogenic potencies from vehicle engine exhausts to highway toll station workers. *Atmos Environ* 2004; 38: 333–343.
- 35 Arango SS. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev Fac Nac Salud Pública* 2011; 30: 75–82.
- 36 Grandjean P, Weihe P, White RF. Milestone development in infants exposed to methylmercury from human milk. *Neurotoxicology* 1995; 16: 27–33.
- 37 Wilhelm M, Hardt J, Schulz C, Angerer J. New reference value and the background exposure for the PAH metabolites 1-hydroxypyrene and 1- and 2-naphthol in urine of the general population in Germany: Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health* 2008; 211: 447–453.

- 38 Jongeneelen FJ. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg* 2001; 45: 3–13.
- 39 Alghamdi M, Alam M, Stark C, Mohammed N, Harrison R, Shamy M *et al.* Urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in Saudi Arabian schoolchildren in relation to sources of exposure. *Environ Res* 2015; 140: 495–501.
- 40 CDC. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals. Atlanta, GA, 2009.
- 41 Schwartz J. Air Pollution and Children's Health. *Pediatrics* 2004; 113: 1037–1043.
- 42 WHO (World Health Organization) Healthy environments for healthy children: key messages for action. Geneva, 2010.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44381/1/9789241599887_eng.pdf
- 43 Abbas AO, Brack W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Niger Delta soil: contamination sources and profiles. *Int J Environ Sci Technol* 2006; 2: 343–352.
- 44 Trasande L, Urbina EM, Khoder M, Alghamdi M, Shabaj I, Alam MS *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons, brachial artery distensibility and blood pressure among children residing near an oil refinery. *Environ Res* 2015; 136: 133–40.
- 45 Aparicio C, Ortega M, Sandoval E. La segregación socio-espacial en Monterrey a lo largo de su proceso de metropolización. *Región y Soc* 2011; 23: 173–207.
- 46 INE-SEMARNAT. *Guía metodológica para la estimación de emisiones de PM_{2.5}*. 1ra. ed. México, D.F., 2011.
- 47 SIMA. Reportes Especiales de la Calidad del Aire en el Área Metropolitana de Monterrey. 2015. <http://aire.nl.gob.mx/>

- 48 INEGI. Vehículos de motor registrados en circulación. Regist. Adm. 2015. <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/economicas/vehiculos/>.
- 49 CAINTRA. Industria de la manufactura. Estadísticas del Sector en Nuevo León. Monterrey N.L., 2010. <http://www.caintra.org.mx/uploads/Reportes sectoriales/Industria Manufacturera en Nuevo Le%C3%B3n.pdf>
- 50 PEMEX. Anuario Estadístico. 2014. http://www.pemex.com/ri/Publicaciones/Anuario%20Estadistico%20Archivos/2014_ae_00_vc_e.pdf
- 51 SEMARNAT. Programa de gestión para mejorar la calidad del aire del Área Metropolitana de Monterrey 2008-2012. http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/temas/gestionambiental/calidaddelaire/Documents/Calidad del aire/Proaires/Seguimiento y evaluaci%C3%B3n 2011/Anexo_1F_Informe_ProAire_Monterrey_E11.pdf
- 52 Cazier F, Dewaele D, Delbende A, Nouali H, Garçon G, Verdin A *et al.* Sampling analysis and characterization of particles in the atmosphere of rural, urban and industrial areas. *Procedia Environ Sci* 2011; 4: 218–227.
- 53 Di Filippo P, Riccardi C, Pomata D, Gariazzo C, Buiarelli F. Seasonal abundance of particle-phase organic pollutants in an urban/industrial atmosphere. *Water, Air, Soil Pollut* 2010; 211: 231–250.
- 54 Rao BP, Ansari MF, Pipalatkhar P, Kumar A, Nema P, Devotta S. Monitoring and assessment of particulate matter and poly aromatic hydrocarbons (PAHs) around a petroleum refinery. *Bull Environ Contam Toxicol* 2007; 79: 197–201.
- 55 Rehwagen M, Müller A, Massolo L, Herbarth O, Ronco A. Polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particles in ambient air from urban and industrial areas. *Sci Total Environ* 2005; 348: 199–210.
- 56 Yassaa N, Cecinato A. Composition of torched crude oil organic

particulate emitted by refinery and its similarity to atmospheric aerosol in the surrounding area. *Chemosphere* 2005; 60: 1660–6.

- 57 Botello A., Villanueva S., Diaz G., Escobar-Briones E. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Salina Cruz Harbour and Coastal Areas, Oaxaca, Mexico. *Mar Pollut Bull* 1998; 36: 554–558.
- 58 González GD, Botello AV, Vélez GP. Contaminación por hidrocarburos aromáticos y policíclicos (HAP'S) disueltos en la laguna Mecoacán, Tabasco, México. *Hidrobiológica* 1994; 4: 21–28.
- 59 Botello A, Villanueva S, Díaz G, Pica Y. Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos y organismos del Puerto de Salinas Cruz, Oaxaca, México. *Rev Int Contam Ambient* 1995; 11: 21–30.
- 60 CONAPO. Delimitación de las zonas metropolitanas de México 2010. México, D.F., 2012.
http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Zonas_metropolitanas_2010
- 61 INEGI. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Cadereyta Jiménez, Nuevo León. 2009.
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/19/19009.pdf>.
- 62 Gobierno de N.L. Periódico Oficial. Monterrey, N.L., 2013.
<http://cadereyta.gob.mx/transparencia/art10/fraccion8/planmunicipaldesarrollo2012-2015.pdf>
- 63 INEGI. Censo de población y vivienda 2010.
http://www.inegi.org.mx/est/lista_cubos/consulta.aspx?p=pob&c=1.
- 64 Badillo-Castañeda CT, Garza-Ocañas L, Garza-Ulloa H, Zanatta-Calderón MT, Caballero-Quintero A. Heavy metal content in PM 2.5 air samples collected in the Metropolitan Area of Monterrey, México. *Hum Ecol Risk Assess An Int J* 2015; 21: 2022–2035.
- 65 González Santiago O. *Determinación del contenido de PAH's en*

partículas PM_{2.5} en una zona de alto tráfico vehicular y otra con potencial exposición industrial del Área Metropolitana de Monterrey TESIS. 2009.

- 66 INSHT. Determinación de 1-hidroxipireno en orina - Método de hidrólisis enzimática con detección fluorimétrica / Cromatografía líquida de alta resolución. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo: Madrid, 2001.
- 67 DOF - Diario Oficial de la Federación. NOM-047-SSA1-2011, Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas.
- 68 Rajput N, Lakhani A. Measurements of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urban atmosphere of Agra, India. *Atmosfera* 2010; 23.
- 69 USEPA. Method 8000B: Determinative chromatographic separations. 1996. <http://www.accustandard.com/assets/8000b.pdf>
- 70 Hansen ÅM, Raaschou-Nielsen O, Knudsen LE. Urinary 1-hydroxypyrene in children living in city and rural residences in Denmark. *Sci Total Environ* 2006; 363: 70–77.
- 71 WHO (World Health Organization) Air Quality Guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. Geneva, 2005. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69477/1/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_eng.pdf
- 72 Dallarosa J, Calesso Teixeira E, Meira L, Wiegand F. Study of the chemical elements and polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particles of PM₁₀ and PM_{2.5} in the urban and rural areas of South Brazil. *Atmos Res* 2008; 89: 76–92.
- 73 Amodio M, Caselli M, de Gennaro G, Tutino M. Particulate PAHs in two urban areas of southern Italy: Impact of the sources, meteorological and background conditions on air quality. *Environ Res* 2009; 109: 812–20.
- 74 Barrado AI, García S, Barrado E, Pérez RM. PM_{2.5}-bound PAHs and

- hydroxy-PAHs in atmospheric aerosol samples: Correlations with season and with physical and chemical factors. *Atmos Environ* 2012; 49: 224–232.
- 75 Barrado AI, García S, Pérez RM. Desarrollo de una Metodología Analítica para la Determinación de Compuestos Aromáticos Policíclicos en las Fracciones PM2.5 -PM10. 2013.
 - 76 Herrera Murillo J, Chaves Villalobos MDC, Villalobos M del CC. Validación de un método de análisis para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos por cromatografía líquida de alta eficiencia en partículas PM10 Y PM2,5. *Rev Tecnol en Marcha* 2012; 25. doi:10.18845/tm.v25i3.456.
 - 77 INECC-CCA. Guía para la implantación, validación y verificación del desempeño continuo de un método analítico. México, 2010. http://www2.inecc.gob.mx/dgcenica/proname/informes/guia_implantacion_validacion_y_verificacion_de_metodos_analiticos_inecc_2013.pdf
 - 78 COFEPRIS. Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos. 2014. <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfq032011.pdf>
 - 79 EMA. Manual de procedimientos criterios de aplicación de la Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 / ISO/IEC 17025:2005. 2013. http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Carpeta_1_Procedimientos_y_Politicas/MP-FP002_Evaluacion_acreditacion_LAB%2017025_3.pdf
 - 80 González Cárdenas Jessica Argentina. *Determinación y cuantificación de PAHs en partículas PM2.5 en el área metropolitana de monterrey y su relación con el 1- hidroxipireno como marcador biológico de exposición.* 2014.
 - 81 Cazier F, Genevray P, Dewaele D, Nouali H, Verdin A, Ledoux F *et al.*

- Characterisation and seasonal variations of particles in the atmosphere of rural, urban and industrial areas: Organic compounds. *J Environ Sci* 2016; 44: 45–56.
- 82 Bozlaker A, Muezzinoglu A, Odabasi M. Atmospheric concentrations, dry deposition and air-soil exchange of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an industrial region in Turkey. *J Hazard Mater* 2008; 153: 1093–102.
- 83 Ravindra K, Bencs L, Wauters E, de Hoog J, Deutsch F, Roekens E *et al.* Seasonal and site-specific variation in vapour and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmos Environ* 2006; 40: 771–785.
- 84 Caricchia AM, Chiavarini S, Pezza M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmospheric particulate matter in the city of Naples (Italy). *Atmos Environ* 1999; 33: 3731–3738.
- 85 Sánchez-Soberón F, van Drooge BL, Rovira J, Grimalt JO, Nadal M, Domingo JL *et al.* Size-distribution of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and other organic source markers in the surroundings of a cement plant powered with alternative fuels. *Sci Total Environ* 2016; 550: 1057–1064.
- 86 Karlesky DL, Ramelow G, Ueno Y, Warner IM, Ho C-N. Survey of polynuclear aromatic compounds in oil refining areas. *Environ Pollut* 1987; 43: 195–207.
- 87 Nadal M, Mari M, Schuhmacher M, Domingo JL. Multi-compartmental environmental surveillance of a petrochemical area: levels of micropollutants. *Environ Int* 2009; 35: 227–35.
- 88 Wang X, Cheng H, Xu X, Zhuang G. A wintertime study of polycyclic aromatic hydrocarbons in PM(2.5) and PM(2.5-10) in Beijing: assessment of energy structure conversion. *J Hazard Mater* 2008; 157: 47–56.

- 89 Manoli E, Kouras A, Samara C. Profile analysis of ambient and source emitted particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons from three sites in northern Greece. *Chemosphere* 2004; 56: 867–78.
- 90 Kavouras IG, Koutrakis P, Tsapakis M, Lagoudaki E, Stephanou EG, Von Baer D *et al.* Source apportionment of urban particulate aliphatic and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) using multivariate methods. *Environ Sci Technol* 2001; 35: 2288–2294.
- 91 Ministry of Environment. PAHs and their characteristics. 1993. <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/pahs/pahs-01.htm>.
- 92 Siwińska E, Mielżyńska D, Smolik E, Bubak A, Kwapiński J. Evaluation of intra- and interindividual variation of urinary 1-hydroxypyrene, a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci Total Environ* 1998; 217: 175–183.
- 93 Martínez-Salinas RI, Elena Leal M, Batres-Esquivel LE, Domínguez-Cortinas G, Calderón J, Díaz-Barriga F *et al.* Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *Int Arch Occup Environ Health* 2010; 83: 617–623.
- 94 Sánchez-Guerra M, Pelallo-Martínez N, Díaz-Barriga F, Rothenberg SJ, Hernández-Cadena L, Faugeron S *et al.* Environmental polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and DNA damage in Mexican children. *Mutat Res* 2012; 742: 66–71.
- 95 Freire C, Abril A, Fernández MF, Ramos R, Estarlich M, Manrique A *et al.* Urinary 1-hydroxypyrene and PAH exposure in 4-year-old Spanish children. *Sci Total Environ* 2009; 407: 1562–1569.
- 96 Vyskocil A, Fiala Z, Chénier V, Kajak L, Ettlerova E, Bukac J *et al.* Assessment of multipathway exposure of small children to PAH. *Environ Toxicol Pharmacol* 2000; 8: 111–118.
- 97 Bartolomé M, Ramos J, Cutanda F, Huetos O, Esteban M, Ruiz-Moraga M

- et al.* Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT.ES project. *Chemosphere* 2015; 135: 436–446.
- 98 Buckley TJ, Waldman JM, Dhara R, Greenberg A, Ouyang Z, Lioy PJ. An assessment of a urinary biomarker for total human environmental exposure to benzo[a]pyrene. *Int Arch Occup Environ Health* 1995; 67: 257–266.
 - 99 Mucha AP, Hryhorczuk D, Serdyuk A, Nakonechny J, Zvinchuk A, Erdal S *et al.* Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of PAH exposure in 3-year-old Ukrainian children. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 603–9.
 - 100 Hu S-W, Chan Y-J, Hsu H-T, Wu K-Y, ChangChien G-P, Shie R-H *et al.* Urinary levels of 1-hydroxypyrene in children residing near a coal-fired power plant. *Environ Res* 2011; 111: 1185–91.
 - 101 Lee M-S, Eum K-D, Lee K, Kim H, Paek D. Seasonal and regional contributors of 1-hydroxypyrene among children near a steel mill. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 96–101.
 - 102 Chuang JC, Callahan PJ, Lyu CW, Wilson NK. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposures of children in low-income families. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 1999; 9: 85–98.
 - 103 Heudorf U, Angerer J. Internal exposure to PAHs of children and adults living in homes with parquet flooring containing high levels of PAHs in the parquet glue. *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74: 91–101.
 - 104 DOF. NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Estados Unidos Mexicanos, 2013.
 - 105 ICH. Q2 (R1) Validation of analytical procedures, 2005.
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

A P É N D I C E S

Apéndice 1

Material, equipos y reactivos

Equipo de muestreo y análisis

- Muestreador de alto volumen Hi-Vol, con separador para partículas PM_{2.5} (TICHS® Environmental).
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución, HP Agilent 1100 con automuestreador y bomba cuaternaria, acoplado a un detector de fluorescencia.
- Columna Supelcosil PAHs de 0.4 X 250 mm de diámetro interno y 5 µm de espesor de película.
- Columna Zorbax C18 de 3.0 x 150mm de diámetro interno y 3.5µm tamaño de partícula

Material

- | | |
|---|---|
| • Balanza analítica | • Frascos ámbar de 30 mL |
| • Baño de ultrasonido | • Gradillas para viales de 2 mL Papel aluminio. |
| • Bomba de vacío. | • Jeringas desechables Manómetro |
| • Columnas Octadecil C18 SPE (Resprep) | • Micropipetas de 100, 1000 µL Muffla |
| • Campana de extracción | • Matraces de aforación |
| • Congelador (-20°C) | • Ultracongelador (-80°C) |
| • Desecador | • Pipetas volumétricas de 10, 25 mL. |
| • Equipo de calibración | • Termómetro |
| • Evaporador | • Puntillas 100, 1000 µL. |
| • Filtros de Fibra de vidrio GF/A Whatman | • Sistema de filtración Millipore. |
| • Filtros de 0.45 µm Millipore. | • Tapón de rosca y Septa de PTFE/Silicon. |
| • Frascos de polietileno de 100 mL | • Tubos Corning de 50 mL |
| | • Viales de vidrio ámbar de 2 mL |

Reactivos

- Agua bidestilada.
- Acetonitrilo grado HPLC.
- Diclorometano grado HPLC.
- Enzima β -glucuronidasa/arilsulfatasa (*Helix pomatia*)
- Estándar de 1-hidroxipireno (361518 Sigma-Aldrich).
- Estándar de 16 PAHs en acetonitrilo (36979 Sigma-Aldrich).
- Estándares individuales de PAHs (Sigma-Aldrich): antraceno, acenafteno, acenatileno, fluoreno, fenanatreno, fluoranteno, naftaleno, pireno, benzo [a] antraceno, criseno, benzo [b] fluoranteno, benzo [k] fluoranteno, benzo [a] pireno, benzo [ghi] perileno, Dibenzo [ah] antraceno, indeno [1,2,3-cd] pireno.
- Nitrógeno grado industrial
- Metanol
- Sílica gel con marcador
- Tampón de Acetatos 0.2 M, pH=5

Apéndice 2

Calibración del equipo muestreador de PM_{2.5}

- Se instala un filtro limpio en el muestreador.
- Se cierra el equipo.
- Se instala el manómetro (Venturi) en el muestreador.
- Se deja operar el equipo por cinco minutos.
- Se toma la caída de presión en el manómetro.
- Se toman los datos de presión atmosférica y temperatura locales.
- Una vez tomada la lectura del manómetro se apaga el equipo y se retira el filtro.
- Se instala el calibrador (VARIFLO) en el muestreador.
- Los orificios del VARIFLO deben encontrarse totalmente abiertos.
- Se enciende nuevamente el equipo y se deja operar por al menos dos minutos.
- Se comienza a girar la perilla del VARIFLO para ajustar la lectura de presión del manómetro al mismo valor que se obtuvo con el filtro limpio.
- Una vez que se han igualado las presiones se toma la caída de presión del VARIFLO.

Toda la información resultante debe ser vaciada en la hoja de calibración del muestreador.



Facultad de Medicina. Departamento de Farmacología y Toxicología

Nota 2: Los datos de flujo de la "Look-up Table" son empleando la tabla de flujos del respectivo muestreador TISCH.

Cálculos

Primero se debe obtener el valor del flujo de diseño del equipo. Este flujo corresponde al que se obtiene con el filtro limpio.

La presión del manómetro medida en el equipo en pulgadas de agua debe transformarse a Mg, por lo que se multiplica por 1.87.

A la presión ambiente (Pa) se le resta la caída de presión del equipo DPcfd.

La denominamos P1 = (Pa-DPcfd).

Se obtiene la relación de presión (P1/Pa), este cociente siempre va a ser menor de 1.

El valor obtenido de P1/Pa se cruza en la tabla de flujos “LOOK-UP TABLE” contra el valor de temperatura y donde se cruza es el flujo.

El segundo paso es obtener el valor de flujo dado por el calibrador VARIFLO.

La presión del manómetro medida en el equipo en pulgadas de agua debe transformarse a Mg. Se multiplica por 1.87.

Se obtiene la siguiente expresión:

$$Q_{STD} = \sqrt{\frac{\Delta H * Pa * T_{STD}}{\frac{P_{STD} * T_1}{m}} - b}$$

- m y b son la pendiente y la intersección al eje de la calibración del VARIFLO a condiciones estándar.

- Una vez obtenido el flujo a condiciones estándar se transforma a las condiciones locales de presión y temperatura.

$$Qa = Q_{STD} * \frac{P_{STD} * T_1}{Pa * P_{STD}}$$

- El flujo obtenido con el VARIFLO debe ser el mismo (con un error no mayor del 5 %) que se obtuvo de la LOOK-UP TABLE con el filtro limpio instalado.

Si esto sucede la calibración se considera satisfactoria.

Apéndice 3

Muestreo de partículas PM_{2.5}

Equipo: _____	Estado: _____
Marca: _____	Ciudad: _____
Modelo: _____	Localidad: _____
No. de serie: _____	Zona de muestreo: _____

Identificación del filtro	
No. de filtro: _____	
Fecha de colocación: _____	Fecha de retiro: _____

Condiciones de muestreo	
ti: _____ h.	Expresa Δt en minutos
tf: _____ h.	
$\Delta t = t_f - t_i$: _____ h.	$\Delta t * 60 =$ _____ Min.
P_{AVG} : _____ mm Hg	
T_{AVG} : _____ °C	
Δt = tiempo transcurrido de muestreo (24±1 hr.) P y T _(promedio) : Se obtuvieron a partir de datos proporcionados por SIMA, para lo que se promedió lo correspondiente al horario de muestreo.	

Flujo volumétrico de muestreo	
* $\Delta H_2O_i =$ _____ in H ₂ O	i= medida al inicio del muestreo
* $\Delta H_2O_f =$ _____ in H ₂ O	f= medida antes de retirar el filtro al final del muestreo
Cada uno se obtiene del promedio de los dos datos del manómetro.	
$\Delta H_2O_{AVG} = (\Delta H_2O_f + \Delta H_2O_i) / 2 =$ _____ in H ₂ O	
Convertir a mmHg $\Delta P = \Delta H_2O_{AVG} * 1.87 =$ _____ mmHg	
$(P_{AVG} - \Delta P) / P_{AVG} =$ _____	Para obtener Qa , se busca en la Look-up Table , cruzando en el eje de las X este valor y la temperatura en el de las Y.
Flujo de muestreo (Qa) = _____ m ³ /min	

Observaciones: _____

Responsable: _____ **Firma:** _____

Apéndice 4
Cálculo de concentración de partículas PM_{2.5}

No. de filtro: _____

	Inicial	Final
Peso (g):	_____	_____
Fecha:	_____	_____
Operador:	_____	_____

Para el cálculo del volumen de aire muestreado se utilizó la siguiente ecuación:

$$V = Qa * t$$

Dónde:

V = Volumen del aire muestreado (m³)

Qa = Flujo volumétrico (m³/min)

t= Tiempo (min)

*El cálculo de flujo de muestreo (Qa) se detalla en el Apéndice 3 A

$$V = \text{_____} \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Para el cálculo de la concentración de PM_{2.5} (expresada en $\mu\text{g}/\text{m}^3$) se utilizó la siguiente ecuación:

$$C = \frac{(Pf - Pi) * 10^6}{V}$$

Dónde:

C = Concentración de PM 2.5

P_i = Peso del filtro antes del muestreo (gramos)

P_f = Peso del filtro después del muestreo (gramos)

$$\text{PM}_{2.5} = \text{_____} \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Responsable: _____ Firma: _____

Apéndice 5

Cálculo de la concentración de PAHs en ng/m³ a partir de µg/mL

- 1.- La concentración en µm/mL, se obtiene aplicando la ecuación de la recta, obtenida en la validación del método, al área bajo la curva (ABC) de cada PAHs.
- 2.- La concentración en µm/mL se convierte esta concentración a µg inyectados en el HPLC. Esto se hace multiplicando la concentración obtenida del correspondiente PAHs por el volumen final reducido 0.2 mL
- 3.- Se calculan los µg totales de la tira analizada. Para lo que se multiplica los µg resultantes del paso anterior por el primer volumen reducido de 2 mL.
- 4.- Para obtener los µg totales de cada PAHs en el filtro completo, se multiplican los µg totales de la tira individual por nueve. Recordando que la tira corresponde a 1/9 del filtro completo.
- 5.- Con los µg totales del filtro se calcula a calcular los ng/m³ de cada PAHs, dividiendo los µg totales entre el volumen de aire que pasó a través del filtro durante el muestreo.

Cálculo del Factor (F) de equivalencia de µg/mL a ng/m³

Volumen aire muestra ≈ 1650 m³

Fracción del filtrado analizado = 1/9

Volumen final de la primera concentración = 2mL

Volumen final de la segunda concentración = 0.1 mL

$$F = (1/1650 \text{ m}^3) (9/1) (2/1) (0.1/1)(1000\text{ng/m}^3)$$

$$F = 1.058$$

Apéndice 6

Cuestionario

DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM2.5 EN LA ZONA URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ N.L.

Folio: _____

- La información proporcionada en este cuestionario es confidencial. Si usted no desea contestar alguna de las preguntas sólo marque una línea (----).
- Recuerde que la información proporcionada será utilizada únicamente para describir a la población estudio y no a cada uno de los participantes.
- En algunos casos podrá seleccionar más de una respuesta.

I. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre del niño: _____ Edad: _____

Dirección: _____

Calle y No.

Colonia

C.P.

Teléfono: _____ Celular: _____

Escuela a la que asiste: _____ Grado: _____

Tiempo de residir en Cadereyta: a) 0 – 1 año b) 1 – 5 años c) 5-10 años d) 10 o más

Peso: _____ kg. Talla: _____ mts.

Datos de los padres

Nombre del padre: _____ Edad: _____

Ocupación del padre: _____

Tiempo que tiene realizando esta actividad: a) 0 – 1 año b) 1 – 5 años c) 5 o más

Tiempo de residir en Cadereyta: a) 0-1 año b) 1- 5 años c) 5-10 años d) 10 o más

Nombre de la madre: _____ Edad: _____

Ocupación de la madre: _____

Tiempo que tiene realizando esta actividad: a) 0 – 1 año b) 1 – 5 años c) 5 o más

Tiempo de residir en Cadereyta: a) 0 – 1 año b) 1 – 5 años c) 5-10 años d) 10 o más

II. ANTECEDENTES CLÍNICOS

Qué tan frecuentemente su hijo presenta:

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Dificultad para respirar | <input type="checkbox"/> Lagrimeo o sensibilidad a la luz |
| <input type="checkbox"/> Ataques de asma | <input type="checkbox"/> Irritación de la piel |
| <input type="checkbox"/> Bronquitis | <input type="checkbox"/> Descamación de la piel |
| <input type="checkbox"/> Tos | <input type="checkbox"/> Diarrea |
| <input type="checkbox"/> Flemas | <input type="checkbox"/> Vómito |
| <input type="checkbox"/> Irritación de la garganta | <input type="checkbox"/> alguna alergia ¿Cuál/es? _____ |
| <input type="checkbox"/> Irritación de los ojos | <input type="checkbox"/> Otro ¿Cuál/es? _____ |

¿Su hijo presenta actualmente alguna enfermedad? Sí (___) No (___) ¿Cuál/es? _____

¿Actualmente su hijo toma algún medicamento? Sí (___) No (___)

¿Cuál/es? _____

¿Su hijo padece asma? Sí (___) No (___) ¿Desde cuándo? _____

¿Su hijo padece algún tipo de cáncer? Sí (___) No (___) ¿Desde cuándo? _____
¿Qué tipo? _____

III. EXPOSICIÓN

¿Dónde acostumbra jugar su hijo? (sólo sitios cercanos a su casa)

a) Parque o plaza **b)** Patio de la escuela **c)** Patio del hogar **d)** Calle **e)** otros

¿Cuántas horas al día juega su hijo en el exterior de su casa? _____ h.

¿Cada cuánto consume alimentos asados?

a) Todos los días **b)** 2-3 veces por semana **d)** 1 vez por semana
e) 1 vez cada 15 días **f)** 1 vez al mes **g)** Menos de una vez al mes

¿Cada cuánto se hace carne asada en su hogar?

a) 1 vez por semana **b)** 2 veces por semana **c)** 1 vez cada 15 días
d) 1 vez al mes **e)** Menos de una vez al mes

¿Cuándo fue la última vez que su hijo consumió alimentos asados? _____ días

¿Vive cerca de algún establecimiento que venda productos asados al carbón (taquería o pollería)? Sí (___) No (___) ¿Qué tan cerca? _____ mts.

¿Qué tipo de combustible utiliza para cocinar?

a) Gas b) Electricidad c) Carbón d) Leña e) otro _____

¿Acostumbran quemar la basura en su hogar (basura doméstica, llantas, hojas secas, ramas, etc.)? Sí (___) No (___) ¿Qué tan frecuentemente? _____ veces al mes

¿Algún vecino o en algún lugar cercano a su hogar queman basura?

Sí (___) No (___) ¿Qué tan frecuentemente? _____ veces al mes

¿A cuánta distancia de su hogar? _____ mts.

¿De qué material es predominantemente el piso de su hogar?

a) Tierra b) Cemento c) Otro material ¿Cuál? _____

¿Cuántas personas de su casa fuman (padre, madre, hermanos, etc)? _____

¿Fuman en el interior del hogar? Si (___) No (___)

Aproximadamente, ¿cuántos cigarrillos fuma(n) diariamente en el hogar? _____

IV. PERCEPCIÓN

¿Qué tipo de contaminación hay en su localidad?

¿Cuáles son las principales fuentes de contaminación en su localidad?

¿Considera que el aire puede estar contaminado en su localidad?

¿Cuáles considera que son las principales fuentes de contaminación del aire en su localidad?

¿Considera que exponerse a estos contaminantes puede dañar la salud de sus hijos?

Si (___) No (___), ¿Por qué?

Nombre de la madre padre o tutor

Firma

Fecha

Investigador responsable del proyecto:

Dra. med. Lourdes Garza Ocañas

Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Farmacología y Toxicología.

Ave. Gonzalitos 235 Norte, 1er Piso, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León.

Tel: (81) 8348 5247 / 8348 6883

Apéndice 7
Consentimiento informado

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**DETERMINACIÓN DE 1-HIDROXIPIRENO EN POBLACIÓN INFANTIL Y SU
RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE PAH'S EN PM_{2.5} EN LA ZONA
URBANA DE CADEREYTA JIMÉNEZ NL**

Estimado padre, madre o tutor,

El proyecto de investigación titulado **“Determinación de 1-hidroxipireno en población infantil y su relación con el contenido de PAH's en PM_{2.5} en la zona urbana de Cadereyta Jiménez N.L.”** se realiza con el objetivo de estudiar la relación que existe entre el contenido en el aire de un grupo de contaminantes químicos conocidos como PAH's y la excreción urinaria de 1-hidroxipireno en población infantil.

El 1-hidroxipireno es un metabolito del pireno, se trata de una sustancia que después de haber ingresado al organismo por vía respiratoria u oral principalmente, y haber sido transformada en el hígado es eliminada vía urinaria. Este metabolito es un marcador biológico utilizado para conocer el grado en que las personas están expuestas a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's) presentes en el ambiente.

Los PAH's son un grupo de contaminantes químicos que frecuentemente se pueden encontrar en aire, producto de diversas actividades industriales, así como por la quema de leña, carbón, basura y humo de cigarro. La importancia de estudiar la exposición a estas sustancias en los niños, es que ellos son una parte de la población considerada especialmente vulnerable a la exposición a factores ambientales. Esto debido a que se encuentran en pleno proceso de desarrollo y maduración de sus sistemas de defensa. Es por esto que los

contaminantes presentes en el ambiente pueden llegar a afectarlos de manera exagerada en comparación con la población adulta. Aunado a lo anterior está el hecho de que los niños suelen pasar más tiempo al aire libre en comparación con el adulto, lo que incrementa su riesgo de exposición a los contaminantes.

El determinar la concentración de estos contaminantes en el aire y la exposición a estos compuestos, constituye una importante herramienta que permitirá desarrollar estrategias de prevención, a fin de contar con entornos más saludables para las generaciones actuales y futuras.

Invitación a participar: Por lo anterior es que se invita a usted autorizar (de forma voluntaria) la participación de su hijo/a en este estudio de investigación con el fin de lograr los objetivos descritos. Si acepta participar en este estudio es importante que lea este consentimiento informado, que en caso de contener alguna palabra que usted no comprenda por favor solicite al personal del estudio que le explique cualquier duda referente.

Objetivo del estudio: El objetivo es determinar los niveles de excreción del 1-hidroxipireno en orina, en población infantil de la zona urbana del municipio de Cadereyta Jiménez N.L., para posteriormente relacionarlo con los niveles de PAH's presentes en el aire, específicamente contenidos en partículas PM_{2.5}.

Este proyecto de investigación se desarrolla en el departamento de Farmacología y Toxicología de la Universidad Autónoma de Nuevo León. En él participarán aproximadamente 80 niños de entre 6 y 12 años de edad, que habiten la zona urbana del municipio de Cadereyta Jiménez N.L.

Información para el voluntario

Información para el voluntario	Preguntas e información
<p>Muestras biológicas</p> <p>La participación de su hijo constará en proporcionar dos muestras de orina, la primera será entregada durante la última semana de mes de agosto de 2014, y la segunda muestra será entregada durante la última semana del mes de enero de 2015.</p> <p>Para lo anterior será enviado por parte personal del estudio un recordatorio y se entregara el contenedor para la muestra.</p> <p>Cuestionario</p> <p>Posterior a la firma del consentimiento informado se solicitará completar un cuestionario sobre información general, del voluntario, antecedentes médicos y de exposición.</p> <p>Criterios de selección de los participantes:</p> <p>Para poder participar en el estudio se debe:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ser niño o niña de 6 a 12 años de edad. • Habitar durante al menos el último año en Cadereyta Jiménez N.L. • Haber firmado el consentimiento informado por parte del padre, la madre o tutor del niño. <p>No se podrá participar en el estudio en caso de no cumplir con alguno de los criterios antes expuestos.</p> <p>Responsabilidades de los participantes:</p> <p>Deberá seguir las instrucciones que se le proporcionen, así como con la fechas de entrega de las muestras.</p> <p><i>*Se recomienda no ingerir alimentos asados ni estar expuesto al humo de tabaco al menos un día antes de proporcionar las muestras.</i></p>	<p>Posibles riesgos y molestias</p> <p>Ninguno.</p> <p>Confidencialidad</p> <p>El uso que se haga de la información obtenida será confidencial. En todos los casos el nombre de su hijo/hija será remplazado por un número. Su identidad no será revelada en ningún momento y sus datos se mantendrán en confidencialidad. Los datos obtenidos sólo podrán ser publicados de forma anónima, de forma agregada y no individual.</p> <p>Participación o retiro voluntario del estudio</p> <p>La participación en el estudio es completamente voluntaria y sin costo. De igual modo se puede abandonar el estudio en cualquier momento. El retirarse del estudio no representará ninguna penalidad.</p> <p>Beneficios por participar en el estudio</p> <p>No se recibirá ningún beneficio económico producto de la participación en el estudio, sin embargo esperamos que la información obtenida beneficie en el futuro la calidad de vida de las actuales y futuras generaciones de niños.</p> <p>Dudas</p> <p>Si usted tiene alguna duda acerca del estudio o de aspectos relacionados con la investigación deberá comunicarse a:</p> <p>Teléfono: (0181) 8348 5247 / 8348 6883</p> <p>Contacto: M.C. Tatiana Montaña Soto Responsable del proyecto: Dr. med. Lourdes Garza Ocañas</p> <p>Universidad Autónoma de Nuevo León Departamento de Farmacología y Toxicología. Ave. Gonzalitos 235 Norte, 1er Piso, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León.</p>

Hoja de Consentimiento (Copia para la madre, padre o tutor)

Lea la siguiente sección detenidamente y si está de acuerdo con la información, firme y colique la fecha.

1.	Reconozco que he leído la hoja de información que se me ha entregado.	<input type="checkbox"/>
2.	Reconozco que tuve la oportunidad de hacer preguntas acerca del presente estudio de investigación y que fueron respondidas de manera satisfactoria.	<input type="checkbox"/>
3.	Comprendo que si deseo hacer más preguntas respecto a la investigación puedo contactarme con el personal al número de teléfono proporcionado.	<input type="checkbox"/>
4.	Se me han proporcionado los detalles de cuál y cómo será la participación de mi hijo/a en el presente estudio.	<input type="checkbox"/>
5.	Al otorgar mi consentimiento, reconozco que la participación de mi hijo/a en el estudio es voluntaria y que puedo interrumpirla en cualquier momento sin recibir sanción alguna.	<input type="checkbox"/>
6.	Acepto que los datos recabados para el estudio sean usados para los fines y de la forma descrita anteriormente.	<input type="checkbox"/>
7.	He leído y comprendo la información presente en este formulario de Consentimiento Informado. Recibiré una copia firmada y fechada del mismo.	<input type="checkbox"/>
8.	Acepto que mi hijo/a participe en el estudio.	<input type="checkbox"/>

Sección de firmas:

Nombre del niño

Nombre del padre, madre o tutor

Firma

Fecha

Dirección: _____

Nombre del testigo

Firma

Fecha

Dirección: _____

Nombre del testigo

Firma

Fecha

Dirección: _____

Firma y nombre de quien explico el Consentimiento Informado

Fecha

Hoja de Consentimiento (Copia UANL)

Lea la siguiente sección detenidamente y si está de acuerdo con la información, firme y colique la fecha.

1.	Reconozco que he leído la hoja de información que se me ha entregado.	<input type="checkbox"/>
2.	Reconozco que tuve la oportunidad de hacer preguntas acerca del presente estudio de investigación y que fueron respondidas de manera satisfactoria.	<input type="checkbox"/>
3.	Comprendo que si deseo hacer más preguntas respecto a la investigación puedo contactarme con el personal al número de teléfono proporcionado.	<input type="checkbox"/>
4.	Se me han proporcionado los detalles de cuál y cómo será la participación de mi hijo/a en el presente estudio.	<input type="checkbox"/>
5.	Al otorgar mi consentimiento, reconozco que la participación de mi hijo/a en el estudio es voluntaria y que puedo interrumpirla en cualquier momento sin recibir sanción alguna.	<input type="checkbox"/>
6.	Acepto que los datos recabados para el estudio sean usados para los fines y de la forma descrita anteriormente.	<input type="checkbox"/>
7.	He leído y comprendo la información presente en este formulario de Consentimiento Informado. Recibiré una copia firmada y fechada del mismo.	<input type="checkbox"/>
8.	Acepto que mi hijo/a participe en el estudio.	<input type="checkbox"/>

Sección de firmas:

Nombre del niño

Nombre del padre, madre o tutor

Firma

Fecha

Dirección: _____

Nombre del testigo

Firma

Fecha

Dirección: _____

Nombre del testigo

Firma

Fecha

Dirección: _____

Firma y nombre de quien explico el Consentimiento Informado

Fecha

Apéndice 8

Validación de métodos analítico

Los parámetros de desempeño considerados durante la validación de los método fueron: linealidad, precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, límite de cuantificación, límite de detección y porcentaje de recuperación.

A continuación definimos cada uno de estos parámetros, así como los criterios de aceptación utilizados en este trabajo, los cuales se establecieron con base en el método 8000B de la EPA, para el caso de los PAHs y con base en la NOM-177-SSA-2013, para el 1-OHP.^{69,104}

- **Intervalo lineal y de trabajo:** Se define como el intervalo comprendido entre las concentraciones superior e inferior, para las que se ha demostrado que el analito es cuantificado con un nivel satisfactorio de repetibilidad, recuperación y linealidad.⁷⁸

- **Linealidad:** Se define como la capacidad del método para obtener una respuesta que sea directamente proporcional con respecto a la concentración de los analitos de interés, dentro de un rango dado.⁷⁸

De acuerdo a lo establecido en el método 8000B, para evaluar la linealidad, se utiliza el promedio de calibración o factor de respuesta. Los factores de respuesta (FR) para cada uno de los puntos de la gráfica se calculan utilizando la ecuación:

$$FR = \frac{\text{Respuesta del detector o ABC}}{\text{Concentración del estándar en ng/mL}}$$

El criterio de aceptación es una desviación estándar relativa (DER) $\leq 20\%$. Cuando la variación, medida como la DER, es menor o igual a 20%, se puede suponer que la curva de calibración es lineal y pasa a través del origen. Si la DER de los factores de respuesta es mayor que 20% entonces la linealidad a través del origen no se asume.

En este caso, se puede emplear una ecuación de regresión, el cálculo de regresión generará un coeficiente de correlación (r), para el cual el criterio de aceptación un coeficiente ≥ 0.99 .⁶⁹

- **Precisión:** Expresa el grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a una muestra homogénea bajo condiciones establecidas. La precisión de un método analítico se expresa como la desviación estándar o coeficiente de variación, que corresponde al porcentaje de la DER, de una serie de mediciones. El criterio de aceptación para la precisión es un $\%CV \leq 15$.

El coeficiente de variación ($\%CV$) se calcula con la siguiente fórmula:

$$\%CV = \frac{DE}{\text{media}} \times 100$$

Dónde:

DE= Desviación estándar.

\bar{X} (media)= Promedio de la serie de datos.

- **Exactitud:** Establece la cercanía entre el valor que es aceptado como valor de referencia y el valor encontrado experimentalmente, al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces. El criterio de aceptación es un error máximo permitido $\leq 15\%$, para cada nivel de concentración (excepto para el nivel más bajo que se acepta un $\%E \leq 20$), así como para el promedio de los 5 niveles de concentración.

El porcentaje de error ($\%E$) se calcula con la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{(CE - CO)}{CE} \times 100$$

Dónde:

CE= concentración esperada.

CO= concentración obtenida.

- **Repetibilidad y reproducibilidad:** La precisión y exactitud de un método se evalúa a condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, es decir, bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo de tiempo corto, por un mismo analista (repetibilidad) y bajo las mismas condiciones de operación por al menos dos días (reproducibilidad).

- **Porcentaje de recuperación ($\%R$):** Se expresa en términos de porcentaje y corresponde a la cantidad del analito recuperada en una muestra adicionada, cuando esta es conducida a través del método analítico completo. Permite evaluar la eficiencia de la extracción, proceso de preparación e interferencias que puedan existir al aplicarlo. Como criterio de aceptación se considera un porcentaje de recuperación ($\%R = 60-120$).

Para ello se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{AO * 100}{AE}$$

Dónde:

AO= área obtenida

AE = área esperada.

- **Límite de cuantificación (LC):** Se considera como la concentración más baja a la cual un analito dentro del intervalo de calibración, puede cuantificarse con una precisión y veracidad aceptables, bajo las condiciones experimentales establecidas. Se expresa como concentración del analito, el criterio de precisión aceptable es un $CV \leq 20\%$.

- **Límite de detección (LD):** Es la concentración más baja a la cual puede detectarse un analito con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones experimentales establecidas.

De acuerdo a lo establecido en el método Q2 (R1), de la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH, por sus siglas en inglés), el límite de detección (LD) puede obtenerse de manera no instrumental, considerando la desviación estándar de la respuesta y la pendiente de la curva de calibración.

105

- De acuerdo a la siguiente ecuación.

$$LD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Dónde:

σ = Desviación estándar de la respuesta

S = Pendiente de la curva de calibración

Apéndice 8-A

Validación del método analítico para la cuantificación de PAHs y resultados.

Durante la validación del método se evaluaron las etapas de preparación de la muestra y análisis instrumental.

1. Establecimiento de longitudes de onda de excitación y emisión.

Para establecer el programa de longitudes de onda de excitación y emisión para el análisis de PAHs, se utilizaron soluciones estándar de cada uno de los PAHs a una concentración de 0.2 µg/mL. Las soluciones estándar se corrieron en el HPLC, se registró el tiempo de retención y el área bajo la curva de cada PAHs. En cada corrida se modificaron las longitudes de excitación y emisión del detector de fluorescencia, hasta obtener la señal más intensa, es decir, aquella con un pico más grande y una mayor área bajo la curva.

Posteriormente se preparó una solución de un estándar de 16 PAHs en acetonitrilo (36979 Sigma-Aldrich) a una concentración 0.2 µg/mL. La solución se corrió en el cromatógrafo y se ajustaron nuevamente las longitudes de excitación y emisiones del detector de fluorescencia, hasta obtener las longitudes óptimas para el análisis final, las cuales se muestran a continuación.

Tabla 1A. Programa de longitud de onda del detector de fluorescencia.

Tiempo de retención (min)	λ exc nm	λ em nm	Compuesto analizados
0	224	330	Na
6	224	323	Ace, Fl
9.5	250	366	Ph
12.5	245	400	An
13.7	235	449	Flt
14.4	235	390	Pyr
15	267	395	BaA, Chry,
16.5	268	430	BbF
17.5	295	420	BkF, BaP, DBA, BgP
22.5	250	500	Ind

2. Preparación de la muestra

Para la evaluación de todos los parámetros de validación se utilizaron filtros tratados y acondicionados bajo las mismas condiciones que los filtros utilizados en el muestreo. Se utilizaron tiras de 1 x 8 pulgadas, las cuales fueron sometidas a las condiciones de extracción, mencionadas a continuación.

Los filtros enriquecidos con las diferentes soluciones estándar utilizadas durante la validación, fueron colocados en frascos ámbar, y se adicionaron 30 mL de los solventes diclorometano/acetonitrilo (2:1). Los frascos se introdujeron en un baño de ultrasonido por 30 minutos a temperatura ambiente, con recambio de agua cada 10 minutos.

Posterior a la sonicación, los filtros fueron retirados de los frascos, y las soluciones de extracción fueron reducidas a 2 mL usando corriente de nitrógeno y baño de agua a 45°C. El volumen fue filtrado con filtros Milipore de 0.45 µm, y reducido nuevamente a un volumen final de 200 µL, finalmente fue transferido a un vial ámbar de 1.5 mL con tapa de silicón y septa de PTFE, para su análisis.

3. Evaluación de los parámetros de validación

3.1 Linealidad

Se procesaron filtros fortificados a 6 niveles de concentración por triplicado y se analizaron en el equipo, los niveles procesados estaban entre 19.5-312.5 ng/mL. Con la respuesta obtenida se elaboró la gráfica de calibración, la cual representa la relación entre la respuesta del instrumento y la concentración del analito, introducida en el instrumento.⁶⁹ Se determinaron los factores de respuesta, desviación estándar relativa de los factores de respuesta y coeficiente de correlación.

3.1.a Resultados de la evaluación de la linealidad

Los resultados obtenidos cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de acuerdo al Método 8000-B de la EPA.⁶⁹

Tabla 2A. Resultados de la evaluación de la linealidad del método

PAHs	Intervalo de calibración (ng/mL)	Factor de respuesta	%DER de FR	Coeficiente de correlación
Naftaleno	19.5-312.5	0.9	8.6	0.998
Acenafteno	19.5-312.5	3.7	12.5	0.999
Fluoreno	19.5-312.5	0.4	11.0	0.999
Fenantreno	19.5-312.5	2.5	9.8	0.999
Antraceno	19.5-312.5	7.0	8.5	0.999
Fluoranteno	19.5-312.5	1.0	5.9	0.999
Pireno	19.5-312.5	1.7	13.1	0.999
Benzo[a]antraceno	19.5-312.5	2.3	7.2	0.998
Criseno	19.5-312.5	2.3	6.9	0.998
Benzo[b]fluoranteno	19.5-312.5	1.6	7.0	0.998
Benzo[k]fluoranteno	19.5-312.5	5.9	8.7	0.999
Benzo[a]pireno	19.5-312.5	3.5	7.4	0.999
Dibenzo[ah]antraceno	19.5-312.5	2.1	7.2	0.998
Benzo[ghi]perileno	19.5-312.5	1.3	8.3	0.999
Indeno[1,2,3cd]perileno	19.5-312.5	0.5	5.9	0.999

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15, Coeficiente de correlación \geq 0.995

3.2 Precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad

Se analizaron el mismo día filtros fortificados a 3 niveles de concentración por quintuplicado. Los niveles procesados fueron de 58.5, 117.1 y 234.3 ng/mL. Estas concentraciones fueron diferentes a las utilizadas en la evaluación de la linealidad. Para la evaluación de la precisión se calculó el %CV, para evaluar la exactitud, se calculó el porcentaje de error (%E).

3.2.a Resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad

Los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad del método, cumplieron con los criterios de aceptación, los cuales fueron $\%CV \leq 15$ para la precisión y el $\%E \leq 15$ para la exactitud, en cada nivel de concentración y como promedio de los puntos de la gráfica.

Tabla 3A. Resultados de la evaluación precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad.

PAHs	Precisión %CV	Exactitud %Error
Naftaleno	3.4	3.4
Acenafteno	2.7	8.6
Fluoreno	5.2	10.2
Fenantreno	5.8	5.1
Antraceno	6.8	4.8
Fluoranteno	5.2	0.7
Pireno	5.8	1.0
Benzo[a]antraceno	5.2	5.3
Criseno	8.3	3.0
Benzo[b]fluoranteno	5.2	5.8
Benzo[k]fluoranteno	6.1	5.5
Benzo[a]pireno	4.9	2.1
Dibenzo[ah]antraceno	5.3	1.0
Benzo[ghi]perileno	6.4	6.4
Indeno[1,2,3-cd]perileno	6.3	2.6

Criterios de Aceptación: $\%CV \leq 15$; $\%E \leq 15$

3.3 Precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

Se analizaron en 3 días diferentes filtros fortificados a 3 niveles de concentración por duplicado. Los niveles procesados fueron de 58.5, 117.1 y 234.3 ng/mL. Los niveles utilizados fueron diferentes a los que se utilizaron en la evaluación de la linealidad. Se calculó la exactitud y la precisión de la misma manera que en las condiciones de repetibilidad, y se utilizaron los mismos criterios de aceptación.

3.3.a Resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

Los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad del método, cumplieron con los criterios de aceptación.

Tabla 4A. Resultados de la evaluación precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

PAHs	Precisión %CV	Exactitud %Error
Naftaleno	4.1	6.2
Acenafteno	2.7	8.8
Fluoreno	3.6	5.5
Fenantreno	4.3	3.9
Antraceno	6.6	5.7
Fluoranteno	3.8	8.9
Pireno	3.4	5.6
Benzo[a]antraceno	4.2	3.4
Criseno	5.0	3.6
Benzo[b]fluoranteno	2.9	5.6
Benzo[k]fluoranteno	5.1	3.6
Benzo[a]pireno	2.3	5.7
Dibenzo[ah]antraceno	4.3	3.9
Benzo[ghi]perileno	3.7	5.3
Indeno[1,2,3-cd]perileno	4.2	3.7

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15; %E \leq 15

3.4 Porcentaje de recuperación (%R)

Se fortificaron filtros a 3 niveles de concentración por triplicado y se sometieron a todo el proceso de extracción. Los niveles procesados estaban entre 58.5-234.3 ng/mL. Se analizaron estándares de los mismos niveles de concentración sin someterlos al proceso de extracción y se determinó el porcentaje de recuperación por comparación de las áreas obtenidas.

3.4.a Resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

Los resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R), cumplieron con los criterios de aceptación, como se muestra a continuación.

Tabla 5A. Resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

PAHs	%R
Naftaleno	98.2
Acenafteno	89.5
Fluoreno	97.9
Fenantreno	94.9
Antraceno	89.9
Fluoranteno	92.4
Pireno	96.7
Benzo[a]antraceno	93.3
Criseno	88.3
Benzo[b]fluoranteno	91.7
Benzo[k]fluoranteno	92.5
Benzo[a]pireno	94.1
Dibenzo[ah]antraceno	91.9
Benzo[ghi]perileno	89.1
Indeno[1,2,3-cd]perileno	95.0

3.5 Límite de cuantificación (LC)

Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración de cada PAHs que cumplió con el criterio de precisión de $CV \leq 20\%$.

3.6 Limite de detección (LD)

El límite de detección se estableció con base en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente de la curva de calibración. Como criterio de aceptación se consideró un límite de detección menor al límite de cuantificación ($LD < LC$).

Tabla 6A. Límite de detección y cuantificación para cada uno de los PAHs.

PAHs	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)	%CV LC
Naftaleno	8.90	19.5	2.4
Acenafteno	3.27	19.5	3.5
Fluoreno	4.01	19.5	4.8
Fenantreno	4.37	19.5	4.6
Antraceno	6.36	19.5	8.9
Fluoranteno	18.72	19.5	6.3
Pireno	7.01	19.5	9.3
Benzo[a]antraceno	6.99	19.5	2.0
Criseno	6.58	19.5	13.1
Benzo[b]fluoranteno	8.95	19.5	5.2
Benzo[k]fluoranteno	5.27	19.5	2.5
Benzo[a]pireno	5.86	19.5	8.6
Dibenzo[ah]antraceno	5.07	19.5	6.3
Benzo[ghi]perileno	4.94	19.5	13.4
Indeno[1,2,3-cd]perileno	9.62	19.5	10.5

Criterio de aceptación: $CV \leq 20\%$

Apéndice 8-B

Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP y resultados

Actualmente en la normatividad nacional no existe un método establecido para la determinación de 1-OHP urinario, por lo que en este trabajo se utilizó como método de referencia el método MTA/MB-023/A99 "Determinación de 1-Hidroxipireno en orina. Método de hidrólisis enzimática y detección fluorimétrica / Cromatografía líquida de alta resolución", del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de España (INSHT).⁶⁶

Durante la validación del método se evaluaron las etapas de preparación de la muestra y análisis instrumental. Los parámetros de desempeño evaluados en la validación del método fueron: selectividad, linealidad del método, precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, límite de cuantificación y límite de detección. Los criterios de aceptación de los parámetros validados, se establecieron de acuerdo a la NOM-177-SSA-2013, la cual establece que todos los métodos analíticos empleados para la cuantificación de muestras biológicas deben ser validados en el sitio de análisis y alcanzar el propósito para el que han sido desarrollados, independientemente si son metodologías desarrolladas por la unidad analítica o se adquieren comercialmente.

1. Preparación de la muestra

Para la evaluación de todos los parámetros de validación, se utilizó un pool de orina de 6 niños, no expuestos al humo de tabaco. Con el fin de dar cumplimiento a lo establecido en el punto 9.1.5 de la NOM-177-SSA-2013, en la cual se considera que para la validación de un método es necesario utilizar la misma matriz biológica que las muestras a analizar.

Las muestras fueron alicuotadas a un volumen de 10 mL., se les adicionó una concentración conocida del estándar de 1-hidroxipireno (361518 Sigma-Aldrich). Para la extracción sólido-líquida del 1-OHP, se utilizaron columnas Octadecil C18 SPE (Resprep®), como disolventes extracción se utilizó acetonitrilo y agua bidestilada.

La activación de la columnas se hizo adicionando de 5 mL acetonitrilo, evitando en todo momento que la columna se secase, para el acondicionamiento de la columna se adicionaron 10 mL de agua biodestilada. Posteriormente se adicionó la muestra de orina y se lavó con 10 mL de agua bidestilada y acetonitrilo (9:1). Finalmente para la elución del analito se utilizaron 5 mL de acetonitrilo, el eluido fue recuperado en tubos de ensayo y llevado a sequedad, mediante corriente de nitrógeno y baño de agua a 50°C.

El residuo se reconstituyó en 1 mL de acetonitrilo, se filtró con filtros Millipore de 0.45 µm de tamaño de poro y fue transferido a un vial ámbar de 1.5 mL con tapa de silicón y septa de PTFE, para su análisis mediante cromatografía

liquida de alta resolución (HPLC) a las condiciones establecidas en el método de referencia.

2. Evaluación de los parámetros de validación

Selectividad

Con la finalidad de evaluar la capacidad del método para diferenciar el compuesto de interés de cualquier otro compuesto que pudiera estar contenido en la matriz.

Se evaluaron 6 unidades de la matriz biológica (pool de orina) provenientes de 6 niños, así como 6 muestras las cuales fueron adicionadas con una concentración de 0.266 ng/mL del estándar hidroxipireno, que corresponde al nivel más bajo de concentración de la curva de calibración.

El límite inferior de la curva de calibración, se estableció como el 5% del nivel más alto reportado en la literatura, para el analito en cuestión. Para México se reporta una concentración 0.38 μ mol de 1OHP/mol creatinina una población infantil residente de un área con industria petroquímica ⁹⁴.

El criterio de aceptación para este parámetro fue una respuesta analítica de las interferencias próximas al tiempo de retención $\leq 20\%$ para el LIC del analito (NOM-177-SSA-2013).

2.1 Linealidad

Se procesaron muestras a 10 niveles de concentración por triplicado, los niveles procesados estuvieron entre los 0.266-13.32 ng/mL. Con la respuesta

obtenida se elaboró la gráfica de calibración, la cual representa la relación entre la respuesta del instrumento y la concentración del analito. Se determinaron, coeficiente de variación y coeficiente de correlación

2.1.b Resultados de la evaluación de la linealidad

Los resultados obtenidos cumplieron con los criterios de aceptación establecidos.

Tabla 1B. Resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de 1-OHP

Analito	Intervalo de calibración (ng/mL)	%CV de FR	Coeficiente de correlación
1-OHP	0.266-13.32	10.0	0.998

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15, Coeficiente de correlación \geq 0.995

2.2 Precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad

Se analizaron el mismo día muestras adicionadas a 3 niveles de concentración por quintuplicado. Los niveles procesados fueron de 0.799, 6.926 y 10.656 ng/mL. Estas concentraciones fueron diferentes a las utilizadas en la evaluación de la linealidad. Para la evaluación de la precisión se calculó el %CV, para evaluar la exactitud, se calculó el porcentaje de error (%E).

2.2.b Resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad

Los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad del método, cumplieron con los criterios de aceptación,

Tabla 2B. Resultados de la evaluación precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad.

Analito	Precisión %CV	Exactitud %Error
1- OHP	5.0	1.3

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15; %E \leq 15

2.3 Precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

Se analizaron en 3 días diferentes muestras adicionadas a 3 niveles de concentración por duplicado. Los niveles procesados fueron de 0.799, 6.926 y 10.656 ng/mL. Se calculó la exactitud y la precisión de la misma manera que en las condiciones de repetibilidad, y se utilizaron los mismos criterios de aceptación.

2.3.b Resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

Los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad del método, cumplieron con los criterios de aceptación.

Tabla 3B. Resultados de la evaluación precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad

Analito	Precisión %CV	Exactitud %Error
1-OHP	4.4	5.8

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15; %E \leq 15

2.4 Porcentaje de recuperación (%R)

Se adicionaron muestras a 3 niveles de concentración por triplicado y se sometieron a todo el proceso de extracción. Los niveles procesados estaban entre 0.799-10.656 ng/mL. Se analizaron estándares de los mismos niveles de concentración sin someterlos al proceso de extracción y se determinó el porcentaje de recuperación por comparación de las áreas obtenidas. Como criterio de aceptación se consideró un porcentaje de recuperación (%R) = $100 \pm 15\%$.

2.4.b Resultados de la evaluación del porcentaje de recuperación (%R)

Tabla 4B. Resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

Analito	%R
1-OHP	92.4

2.5 Límite de cuantificación (LC)

Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración de cada PAHs que cumplió con el criterio de precisión de $CV \leq 20\%$.

2.5 Límite de detección (LD)

El límite de detección se estableció con base en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente de la curva de calibración. Como criterio de aceptación se consideró un límite de detección menor al límite de cuantificación ($LD < LC$).

Tabla 5B. Límite de detección y cuantificación para cada uno de los PAHs.

1-OHP	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)	%CV LC
1-OHP	0.189	0.266	3.0

Criterio de aceptación: $CV \leq 20\%$, para el nivel de concentración más bajo de la curva de calibración (LC).